

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE DE CÁSCARA DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)**

**DANIEL FELIPE MERA DAVID**

**EDISON FERNEY RIASCOS JOJOA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**SAN JUAN DE PASTO**

**2017**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE DE CÁSCARA DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)**

**DANIEL FELIPE MERA DAVID**

**EDISON FERNEY RIASCOS JOJOA**

**Trabajo de grado modalidad investigación presentado como requisito parcial para optar al  
título de Ingeniero Agroindustrial**

**Asesor:**

**WILLIAM ALEXANDER DIAZ LOPEZ**

**Ms. C Ciencias Agrarias**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**SAN JUAN DE PASTO**

**2017**

### **NOTA DE RESPONSABILIDAD**

Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación:

---

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del Jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, Octubre de 2017

## RESUMEN

Los procesos de transformación en la industria de alimentos generan grandes cantidades de residuos que, además de convertirse en un problema económico para las empresas, de no ser tratados son los causantes de la contaminación ambiental y pueden representar un riesgo para la salud humana y el nicho ecológico de muchas especies animales y vegetales. Muchos de estos residuos tienen un valor potencialmente recuperable que se puede obtener mediante la extracción de compuestos de alto valor añadido que pueden ser utilizados como aditivos naturales en la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica.

Teniendo en cuenta el potencial de los distintos residuos, en este estudio se planteó como objetivo el caracterizar y determinar la actividad antioxidante de los residuos de cascaras tomate de árbol (*Solanum betaceum*),

Para ello se realizó un análisis proximal y se determinó el índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento del material molido, además se estudió el efecto de la potencia, la frecuencia y el tiempo en la extracción asistida por ultrasonido sobre el contenido de fenoles totales de la cascara de tomate de árbol por el método Folin-Ciocalteu, finalmente se determinó la actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y ORAC.

Se determinó que las cascaras de tomate de árbol se caracterizan por un alto contenido de fibra cruda (45,22 g/100 g) y de nutrientes como el potasio (1540 mg/g) y el calcio (220 mg/100 g). Las cascara de tomate de árbol molidas presentan un índice de absorción de agua de 5,16, índice de solubilidad en agua de 10,53 y poder de hinchamiento 5,66.

Los factores frecuencia, potencia y tiempo de extracción, al igual que la interacción potencia-tiempo de extracción, bajo los niveles estudiados en el proceso de extracción de fenoles asistido

con ultrasonido, causaron un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de fenoles totales ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) con un intervalo de confianza de 95%.

En cuanto al contenido de fenoles totales se pudo establecer que el mayor contenido, bajo los niveles estudiados fue cuando la extracción asistida con ultrasonido se realizó a 37 KHz de frecuencia, tiempo de extracción de 30 min y con potencia de 220 V con un valor de 83,18 mg GAE/g de muestra seca, muestra que presentó una actividad antioxidante de 72,80, 354,41 y 367,29  $\mu\text{mol Trolox/g}$  de muestra seca, obtenidas bajo las metodologías DPPH, ABTS y ORAC, respectivamente.

**Palabras clave:** residuo, tomate de árbol, ultrasonido, actividad antioxidante.

## ABSTRACT

Processes of transformation in the food industry generate large amounts of waste that, in addition to becoming an economic problem for companies, if not treated are the cause of environmental pollution and may represent a risk to human health and niche ecological diversity of many animal and plant species. Many of these residues have a potentially recoverable value that can be obtained by extracting high added value compounds that can be used as natural additives in the food, cosmetic and pharmaceutical industries.

Taking into account the potential of the different residues, the objective in this study was to characterize and to determine the antioxidant activity of the peel of tree tomatoes (*Solanum betaceum*).

For this, a proximal analysis was carried out and the water absorption index, water solubility index and swelling power were determined. Also studied the effect of power, frequency and time on ultrasonic assisted extraction on the total phenol content by the Folin-Ciocalteu method, finally the antioxidant activity was determined by the DPPH, ABTS and ORAC methods.

It was determined that the tree tomato peel is characterized by the high content of crude fiber (45,22g/100g) and of nutrients such as potassium (1540 mg/g) and calcium (220mg/g). The ground peel has a water absorption index of 5,16, water solubility index of 10,53 and swelling power 5,66.

The frequency, power and time of extraction, as well as the power-time interaction, under the levels studied in the process of extraction of phenols assisted by ultrasound, cause a statistically significant effect on the total phenol content (p-value <0.05)

Regarding the total phenol content, it was possible to establish that the highest content, under the levels studied was when the assisted extraction with ultrasound was performed at 37KHz frequency, extraction time of 30 min and with power of 220V with a value of 83,18 mg GAE/g dry sample, which showed an antioxidant activity of 72,80; 354,41 and 367,29  $\mu\text{mol Trolox/g}$  of dry sample obtained using the DPPH, ABTS and ORAC methodologies, respectively.

**Key words:** Wastes, tree tomato, ultrasound, antioxidant capacity.

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN .....	18
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
2. JUSTIFICACIÓN.....	24
3. MARCO TEORICO .....	27
3.1 Tomate de árbol ( <i>Solanum betaceum</i> Cav.).....	27
3.1.1 Origen .....	27
3.1.2 Taxonomía .....	27
3.1.3 Características fisicoquímicas.....	28
3.1.4 Morfología .....	30
3.2 Residuos .....	30
3.3 Radicales libres.....	30
3.3.1 Especies reactivas del oxígeno ERO .....	31
3.3.2 Principales fuentes o mecanismos generadores de ERO's. ....	32
3.3.3 Clasificación de ERO.....	34
3.3.3.1 Especies radicalarias .....	34
3.3.3.2 Especies no radicalarias .....	34
3.4 Antioxidantes.....	34
3.4.1 Compuestos fenólicos .....	36
3.4.2 Flavonoides.....	36
3.5 Métodos de extracción.....	41

3.5.1 Extracción convencional con disolventes .....	42
3.5.2 Hidrodestilación .....	43
3.5.3 Extracción asistida por microondas .....	43
3.5.4. Extracción con fluidos supercríticos .....	43
3.5.5 Extracción con ultrasonido .....	43
3.6 Determinación de fenoles totales.....	45
3.6.1 Método de Folin-Ciocalteu .....	45
3.7 Métodos de determinación de actividad antioxidante .....	46
3.7.1 Método DPPH.....	47
3.7.2 Método ABTS.....	48
3.7.3 Método ORAC.....	49
4. ANTECEDENTES .....	51
5 OBJETIVOS.....	51
5.1 Objetivo general .....	61
5.2 Objetivos específicos .....	61
6. METODOLOGÍA .....	62
6.1 Localización.....	62
6.2 Materia prima .....	62
6.3 Acondicionamiento de materia prima.....	62
6.4 Propiedades fisicoquímicas .....	65
6.5 Determinación de fenoles totales.....	66
6.5.1 Extracción de fenoles.....	66
6.5.2 Medición de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu .....	68
6.6 Determinación de actividad antioxidante .....	69

6.6.1 Medición de la actividad antioxidante DPPH.....	70
6.6.2 Método ABTS.....	70
6.6.2.1 Generación del radical ABTS.....	70
6.6.2.2. Medición de la actividad antioxidante ABTS.....	71
6.6.3 Método ORAC.....	71
6.6.3.1 Medición de la actividad antioxidante ORAC.....	71
6.7 Diseño experimental.....	72
7. RESULTADOS Y ANALISIS.....	75
7.1 Propiedades fisicoquímicas.....	75
7.1.1 Análisis proximal de la cascara de tomate de árbol.....	75
7.1.2. Índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento.....	79
7.2 Determinación de fenoles totales.....	81
7.3 Determinación de la actividad antioxidante.....	98
8. CONCLUSIONES.....	106
9. RECOMENDACIONES.....	108
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	109
ANEXOS.....	124

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Producción del anión radical superóxido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial .....	33
Figura 2. Reacciones de Fenton y Haber-weiss .....	33
Figura 3. Estructura de un Flavonoide .....	37
Figura 4. Estructura química de los Flavonoles. ....	38
Figura 5. Estructura química de las Flavonas.....	38
Figura 6. Estructura química de los Flavanonas.....	39
Figura 7. Estructura química de los Isoflavonas. ....	39
Figura 8. Estructura química de las Antocianinas. ....	40
Figura 9. Estructura química de los Flavanoles.....	40
Figura 10. Reacción de transferencia de electrones con el reactivo Folin-Ciocalteu.....	45
Figura 11. Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante .....	48
Figura 12. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante.....	49
Figura 13. Recepción y acondicionamiento de materia prima .....	62
Figura 14. Secado de cáscaras de tomate de árbol .....	63
Figura 15. Reducción de tamaño de cáscaras de tomate de árbol. ....	64
Figura 16. Tamizaje de cáscaras de tomate de árbol. ....	64
Figura 17. Secado de sobrenadante a 90°C en mufla para determinar el ISA. ....	66
Figura 18. Baño ultrasónico de la suspensión .....	67
Figura 19. Centrifugación de la suspensión. ....	67

Figura 20.	Reacción de Folin-Ciocalteu.....	68
Figura 21.	Medición de la absorbancia a 765 nm.....	69

**LISTA DE GRÁFICOS**

	<b>Pág.</b>
Gráfico 1. Diagrama de Pareto estandarizado para la cuantificación de fenoles totales con los factores frecuencia, potencia y tiempo de extracción. ....	83
Gráfico 2. Efectos principales para fenoles totales. ....	84
Gráfico 3. Superficie de respuesta estimada para fenoles totales a una frecuencia de 37KHz. .	85
Gráfico 4. Validación del modelo experimental versus teórico completo. ....	91
Gráfico 5. Validación del modelo experimental versus teórico reducido. ....	92

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1	Producción de Frutas en Colombia .....21
Tabla 2.	Clasificación taxonómica del tomate de árbol. ....28
Tabla 3.	Contenido químico del tomate de árbol <i>S. betaceum</i> (Contenido en 100 gr de parte comestible. ....29
Tabla 4.	Factores experimentales del diseño factorial multinivel.....72
Tabla 5.	Variable de respuesta del diseño factorial multinivel. ....73
Tabla 6.	Matriz del diseño factorial multinivel.....73
Tabla 7.	Análisis proximal, energía y minerales de cascara en polvo de Tomate de Árbol. ..75
Tabla 8.	Índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH) de cascara en polvo de tomate de árbol. ....79
Tabla 9.	Contenido de fenoles totales para los extractos de cascara de tomate de árbol obtenidos por ultrasonido.....81
Tabla 10.	Análisis de Varianza para Fenoles totales. ....82
Tabla 11.	Optimización de la Respuesta – Maximización de Fenoles Totales.....88
Tabla 12.	Coeficientes de regresión para Fenoles totales. ....88
Tabla 13.	Resultados estimados para fenoles totales teóricos versus experimentales. ....89
Tabla 14.	Contenido de Fenoles totales de Extractos Etanólicos obtenidos por metodología convencional – extracción con solventes. ....93
Tabla 15.	Comparativo con diferentes matrices en el contenido de fenoles totales .....95

Tabla 16.	Actividad antioxidante de extracto etanólico de epicarpio de tomate de árbol reportados por AOXLAB.....	99
Tabla 17.	Actividad antioxidante de extracto etanólico de epicarpio de tomate de árbol. ....	100
Tabla 18.	Valores comparativos de diferentes muestras para la determinación de la actividad antioxidante por las metodologías ABTS, DDPH y ORAC .....	103

**LISTA DE ANEXOS**

	<b>Pág.</b>
Anexo 1. Protocolo determinación de fenoles totales Folin-Ciocalteu del laboratorio de calidad y conservación de alimentos .....	125
Anexo 2. Resultados Análisis proximal, energía y minerales de cascara de tomate de árbol .....	128
Anexo 3. Resultados análisis de actividad antioxidante de extracto obtenido por ultrasonido de cascara de tomate de árbol. ....	129

## INTRODUCCIÓN

Colombia es catalogado como uno de los países con mayor mega-diversidad en el mundo, estatus que le permite dar a conocer que hoy en día cuenta con al menos 150 frutos que son originarios del país y más de 50 provenientes de otras regiones que lograron adaptarse a las condiciones agroclimáticas del país. La alta diversidad y disponibilidad de estos recursos hace posible que se desarrollen diversos procesos de transformación que permiten generar valor agregado sobre los productos, permitiendo así una masificación de mercados y una alternativa económica para las familias productoras.

Nariño no es la excepción, el departamento ha mostrado un importante crecimiento del sector frutícola, insertando lentamente el procesamiento de frutas, haciendo que esta actividad tome importancia en el sector socio-económico de la región. En este sentido uno de los mayores problemas relacionado con la producción y la transformación de materia primas, tiene que ver con la eliminación y el aprovechamiento de residuos que en general no cuentan con mayor disposición que la eliminación en conjunto con residuos orgánicos e inorgánicos generados en los hogares o la alimentación animal.

La tendencia mundial en torno a la salud y alimentación, refleja que actualmente los consumidores desean obtener no solo alimentos que logren saciar el hambre si no que cuenten con características funcionales y alto contenido de nutrientes, que den una función beneficiosa en la prevención y control de enfermedades. Dentro de esos compuestos tenemos los antioxidantes que en numerosas investigaciones se ha demostrado que su inclusión en la dieta puede reducir el riesgo de padecer un gran número de afectaciones como enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades gástricas, respiratorias, neurológicas y del sistema endocrino.

Teniendo en cuenta estos precedentes y considerando que el tomate de árbol es uno de los frutos regionales de mayor comercialización, la presente investigación tiene como finalidad la caracterización físicoquímica de cascara en polvo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), así como la extracción de compuestos fenólicos empleando diferentes tiempos, potencias y frecuencias en la extracción asistida por ultrasonido para finalmente realizar la determinación de la actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y ORAC del extracto con el mayor contenido de fenoles totales. La variación y combinación de los anteriores factores permitirá obtener un resultado que genere una alternativa para el aprovechamiento de este subproducto, y a su vez permita tener referentes locales en cuanto a estudios de actividad antioxidante.

Así, el objetivo central de esta investigación es la caracterización físicoquímica y la determinación de actividad antioxidante de la cascara en polvo proveniente tomate de árbol (*Solanum betaceum*), provenientes del departamento de Nariño.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción mundial de frutas aumentó en el periodo comprendido entre 2000 y 2006 en más de 49 millones de toneladas, al pasar de 399,5 a 449,1 millones de toneladas. El 79,2% de la producción de frutas se concentra en uvas (16,1%), bananos (15,3%), manzanas (14,7%), naranjas (15,9%), frutas no clasificadas Previamente (NCP) (9,6%) y plátanos (7,6%) (Dirección Nacional de Planeación, 2008). Por su parte, las frutas tropicales correspondientes al 13% de la producción mundial, aumentaron en el mismo periodo en 9,8 millones de toneladas hasta alcanzar los 58,7 millones de toneladas en 2006, de las cuales el 98% corresponde a la producción de los países en desarrollo (Dirección Nacional de Planeación, 2008).

Colombia es uno de los países con mayor variedad de frutas en el mundo. Su diversidad geográfica, en conjunto con todas las clases de suelo y climas existentes, permiten que cerca de 51.220 especies de plantas florezcan, estableciéndose como el segundo país con mayor número de especies después de Brasil. De los frutos cultivados en Colombia al menos 150 frutos son originarios del país y más de 50 son frutos procedentes de África, Asia, Eurasia y Australia, que lograron adaptarse a las condiciones agroecológicas del país (Contreras *et al.*, 2011).

Según la encuesta nacional agropecuaria de 2014, el 16,7 % del área cultivada en Colombia corresponde a áreas sembradas con frutas, equivalentes a 1.510.372 hectáreas. Según el Ministerio de Agricultura y desarrollo rural (MADR) el cultivo de tomate de árbol junto al de naranja, mango, aguacate, guayaba, mandarina, banano, piña, mora y coco son los cultivos con el mayor impacto económico y social.

El MADR estableció que la producción de frutas y hortalizas en el periodo comprendido entre 2000 y 2006 incrementó de 3,97 a 4,64 millones de toneladas; de estas cifras el volumen de producción de frutas pasó de 2,26 a 3,11 millones de toneladas desde el año 2000 hasta el 2006,

lo que equivale a un crecimiento promedio anual del 4,7% (Dirección Nacional de Planeación, 2008). Como se muestra en la tabla 1, dicho comportamiento se ha mantenido en el periodo 2010 – 2014 donde el crecimiento total durante este periodo fue de un 22%.

**Tabla 1**

***Producción de Frutas en Colombia***

<b>FRUTALES</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>
Areas (Has)	236.848	241.770	256.100	268.608	279.352
Producción (Ton)	3.166.688	3.304.462	3.555.880	3.373.880	3.885.786
Rendimiento (Ton/Ha)	13.37	13.66	13.88	13.91	13.91

Fuente: (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), 2015).

Nariño ocupa el tercer lugar en áreas dedicadas al cultivo de frutas con el 7,1% de las hectáreas dedicadas a esta actividad después de Valle del Cauca y Antioquia. La producción de frutas en Nariño para el año 2010 fue de 133.669 toneladas (Encuesta Nacional Agropecuaria, 2014).

En Nariño el crecimiento del sector frutícola ha permitido que lentamente el procesamiento de frutas tome importancia en el sector socio-económico de la región. Las frutas más utilizadas para el procesamiento son el lulo, maracuyá, tomate de árbol, mora, mango, guanábana, maracuyá, papaya y guayaba. El tomate de árbol es la fruta con mayor producción anual en el departamento con 4477,5 toneladas, le sigue la papaya con 2862,5 toneladas, mora con 2674,9 toneladas, lulo con 2268,9 toneladas, maracuyá con 1602,3 toneladas y el mango, guayaba y guanábana con las producciones más bajas de 649,5, 238,5 y 221 toneladas, respectivamente (Hurtado, 2014).

El proceso transformativo de la cadena frutícola comprende uno de los eslabones más importantes, el cual culmina con la comercialización de productos tales como; zumos,

mermeladas, néctares, etc. Los procesos de transformación hortofrutícola generan cantidades importantes de residuos causantes de contaminación ambiental en aguas, suelos y atmósfera, que además ponen en peligro la salud humana y el nicho ecológico de muchas especies animales y vegetales. A raíz de esta problemática, diversas investigaciones en diferentes países han evaluado las diversas propiedades y usos de estos materiales con el fin de mitigar el impacto ambiental que generan, además de buscar posibles aplicaciones industriales que representen beneficios económicos (Sánchez *et al.*, 2010).

El tomate de árbol de acuerdo a Castro y colaboradores (2013) es una fruta principalmente consumida en fresco o en zumos, sin embargo y debido a la demanda, algunos productos procesados se elaboran actualmente, lo que implica la eliminación del epicarpio, debido a su sabor amargo, agrio y astringente, en la etapa de pelado, produciéndose una pérdida que puede alcanzar hasta un 8% de la fruta procesada, este residuo en realidad no se utiliza y en muchos casos es una fuente de contaminación. Según Martínez (2015) el rendimiento del pelado en el tomate de árbol depende del método que se utilice para realizar dicho procedimiento y de la variedad de la fruta. El pelado manual obtiene un rendimiento con valores que oscilan entre 81 y 83% mientras que el rendimiento de pulpa al aplicar pelado químico puede alcanzar un 98%.

En general la industrialización de frutas, como toda industria de alimentos implica la generación de una cantidad considerable de residuos que pueden ser aprovechados de diversas formas, como en alimentación animal, abonos, obtención de biogás, en la extracción de aceites, pectinas, flavonoides, entre otros. Sin embargo, en la mayoría de los casos, los residuos generados del procesamiento de frutas se arrojan en las basuras generando diversas problemáticas y en algunos casos, por ejemplo en Medellín y la zona del Valle de Aburrá se utilizan como abono y concentrados para animales (Yepes *et al.*, 2008).

De acuerdo a lo planteado anteriormente la pregunta a resolver con este proyecto de investigación es la siguiente: **¿Cuáles son las características fisicoquímicas y la actividad antioxidante de las cascaras de tomate de árbol generadas durante el proceso de transformación del fruto?**

## 2. JUSTIFICACIÓN

La industria alimentaria genera grandes cantidades de residuos y subproductos que contienen compuestos biológicamente activos de gran valor, que debido a su insuficiente utilización generan un impacto negativo de tipo económico y ambiental. Los residuos de la industria alimentaria producidos durante el crecimiento de un cultivo, así como durante las etapas de embalaje, procesamiento, almacenamiento, y la comercialización de los productos, tienen un valor potencialmente recuperable que se puede obtener mediante la extracción de compuestos de alto valor añadido que pueden ser utilizados como aditivos alimentarios naturales. La importancia de los aditivos alimentarios naturales se hace cada vez mayor debido a un uso más amplio de estos compuestos naturales en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos (Vági *et al.*, 2007; Riggi & Avola, 2008).

En Nariño el manejo de los residuos de frutas (semillas y cáscara), no tienen un destino que le imprima valor, debido principalmente a que las estrategias de aprovechamiento de residuos agroindustriales de este tipo, se concentran simplemente a proceso de compostaje para luego ser usado como abono o la disposición final de dichos residuos en un relleno sanitario, actividad que limita la generación de un mayor valor agregado (Hurtado, 2014).

Algunas de las áreas dentro de las que se han centrado estas investigaciones son la obtención de combustibles (Parawira *et al.*, 2008), de saborizantes y compuestos aplicables a la industria de alimentos (Rivas *et al.*, 2009; Di Giogia *et al.*, 2007), y de pesticidas (Cayuela *et al.*, 2008), entre otras. Una de las aplicaciones que mayor fuerza ha cobrado y en la cual se ha hecho más visible la utilización de subproductos de la industria hortofrutícola, es el área de salud y nutrición humana mediante el desarrollo de nuevos fármacos o el aprovechamiento de componentes funcionales, que son añadidos a otras sustancias alimenticias.

La transición epidemiológica de las enfermedades crónicas no transmisibles del adulto es un problema de salud pública en países en desarrollo, el aumento en la prevalencia de enfermedades crónicas y degenerativas en todo el mundo, debido principalmente a las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes, al igual que las enfermedades neurológicas y reumáticas, además de alterar significativamente la calidad de vida, representan el 60% de las muertes, de las cuales el 80% ocurren en países de bajos y de medianos ingresos (Caballero & Palacio, 2010; Velázquez *et al.*, 2003). Se estima que en 2005 aproximadamente 35 millones de personas de todo el mundo murieron por enfermedades crónicas, cifra que duplica el número de defunciones debidas a enfermedades infecciosas, las condiciones maternas y perinatales y las carencias nutricionales (Martinez & Díaz, 2010).

Para el año 2006 en Colombia, la enfermedad cardiovascular fue la primera causa de mortalidad (28.650 casos), por encima de las defunciones a causa de homicidios (16.913 casos), seguido de las enfermedades cerebrovasculares (14.555 casos), enfermedades crónicas de las vías respiratorias (11.479 casos) y diabetes mellitus (7.320 casos) (Martinez & Díaz, 2010).

Numerosas investigaciones han demostrado que el consumo de antioxidantes en la dieta puede reducir el riesgo de padecer un gran número de afectaciones como enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades gástricas, respiratorias, neurológicas y del sistema endocrino. Dentro de estas enfermedades las del tipo cardiovascular poseen varios estudios de tipo científico que avalan el uso de antioxidantes como la vitamina E. Dicha vitamina es transportada por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), reduciendo así los procesos de oxidación; además muchos antioxidantes ejercen acción vasodilatadora, vasoprotectora, antitrombótica, antilipémica o antiesclerótica. En el caso de la diabetes los antioxidantes se encargan de la inhibición a nivel del intestino de la digestión de carbohidratos principalmente

glucosa, hallando además que sustancias de tipo antioxidante podrían estimular la secreción de insulina en el páncreas, activando la recaptura de glucosa en los tejidos blanco para la hormona (Coronado *et al.*, 2005).

De igual forma se tienen estudios que relacionan el consumo de antioxidantes y la disminución de alrededor de 100 afecciones crónicas y su relación con el desbalance del sistema oxidativo (Nuñez, 2011). La mayor parte de la capacidad antioxidante que presentan frutas y vegetales se debe a su contenido de vitamina E, C y carotenos, así como al gran número de polifenoles que estos poseen (García *et al.*, 2001). Por su parte investigaciones realizadas hasta el momento reportan que la actividad antioxidante de frutos tropicales como curuba, borojo, granadilla, sapote, entre otros, es entre 78 y 31 veces mayor en la cascara que en la pulpa, al igual que el contenido de fenoles totales (Contreras *et al.*, 2011).

La cantidad de residuos que se generan durante el procesamiento de frutas, y la concentración de componentes con alto valor biológico en combinación con las características antirradicalarias potencialmente beneficiosas en la salud, justifica el interés de los investigadores en realizar la caracterización fisicoquímica y posterior determinación de la actividad antioxidante en residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.).

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

El tomate de árbol, también conocido como tomate de palo, tomate cimarron, y contragallinazo (Calvo, 2009), es una planta arbustiva perteneciente a la familia de las solanáceas diferenciada por un gran follaje y una altura que puede oscilar entre los 2 y 3 metros. La planta se caracteriza por sus tallos semileñosos, hojas cordiformes (forma de corazón), carnosas, levemente pubescentes y muy grandes. La planta tiene flores de color morado, blanco o púrpura (Pinto & Tiaguaro, 2012).

##### 3.1.1 Origen

La planta es originaria de América del sur en la región que comprende los países de Perú, Ecuador y Colombia (Pinto & Tiaguaro, 2012), disperso en otros países de la región andina como Chile, Ecuador, Bolivia y Brasil. La planta también es cultivada en las zonas montañosas de África, India y Australia. En Nueva Zelanda el fruto del tomate del árbol se ha hecho tan popular que ha desplazado al Kiwi Fruit (Calvo, 2009).

##### 3.1.2 Taxonomía

El nombre científico del tomate de árbol anteriormente llamado *Cyphomandra betacea* Sendt, se fijó definitivamente como *Solanum betaceum* Cav en el año 1995. La clasificación de esta especie en el sistema jerárquico vegetal, la sitúa en el género *Solanum*, en la sección *Pachyphylla* (Cárdenas, 2009).

**Tabla 2.****Clasificación taxonómica del tomate de árbol.**

Reino	<i>Plantae</i>
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Astaridae</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Solanum</i>
Subgénero	<i>Bassovia</i>
Sección	<i>Pachyphylla</i>
Especie	<i>Solanum betaceum</i>

Fuente: (Cárdenas, 2009)

### 3.1.3 Características físicoquímicas

El fruto de tomate de árbol es una fuente importante de beta caroteno (provitamina A) vitamina B6, vitamina C (ácido ascórbico) vitamina E y hierro; además posee cantidades importantes de potasio, magnesio y fosforo (Calvo, 2009).

**Tabla 3.****Contenido químico del tomate de árbol *S. betaceum* (Contenido en 100 gr de parte comestible).**

Componente	Contenido en 100g
Agua	85,54 g
Proteína	1,7 g
Grasa	0,1 g
Carbohidratos	10,3 g
Fibra	1,1 g
Cenizas	0,8 g
Fosforo	22 mg
Calcio	6 mg
Hierro	0,4 mg
Tiamina	0,05 mg
Riboflavina	0,03 mg
Niacina	1,1 mg
Ácido ascórbico	25 mg
Vitamina A	100 mg

Fuente: (Cárdenas, 2009)

El Tomate de árbol es conocido por su alto contenido de nitrógeno, fósforo, potasio (Clark & Richardson, 2002), carotenoides (Rodríguez *et al.*, 1983), antocianinas (Bobbio *et al.*, 1983) y otros compuestos fenólicos (Schmeda *et al.*, 2005). Diferentes antocianinas se han identificado en las frutas de Perú, Brasil, Ecuador y Colombia, así como, carotenoides en frutos de Brasil y Australia (Castro *et al.*, 2013).

Estos compuestos no sólo son responsables del color de la fruta, sino que también poseen propiedades biológicas, terapéuticas y preventivas (Kong *et al.*, 2003) (Bast *et al.*, 1998). Recientemente se ha evaluado la actividad antioxidante (AA), de diferentes extractos de tomate de árbol y las fracciones de los resultados obtenidos muestran un alto potencial de captación de radicales por métodos DPPH y ABTS (Ordoñez *et al.*, 2010), así como, un efecto inhibitor potente de la oxidación LDL *in vitro* (Kou *et al.*, 2009). Esta actividad probablemente se asocia a los compuestos mencionados anteriormente (Bast *et al.*, 1998).

### **3.1.4 Morfología**

El fruto de tomate de árbol es ovalado, ovoide o redondo con un pedúnculo largo y piel lisa y brillante. Su color varía dependiendo de la especie y del estado de madurez desde el verde en estado inmaduro hasta amarillo, anaranjado, rojo, púrpura oscuro y jaspeado de diferentes matices en su madurez; la pulpa del tomate de árbol es de color anaranjada o amarilla. Dentro del fruto se encuentran las semillas, las cuales se caracterizan por ser de forma aplanada y lenticular con un diámetro de 2 a 4 mm, color blanco y un recubrimiento con un mucilago de pigmentos anaranjados, rojizos o morados (Camara de Comercio de Bogota, 2015).

### **3.2 Residuos**

Es cualquier objeto, material, sustancia, elemento o producto que se encuentra en estado sólido o semisólido, o es un líquido o gas contenido en recipientes o depósitos cuyo generador descarta rechaza o entrega porque sus propiedades no permiten usarlo nuevamente en la actividad que lo generó ó porque la legislación o la normatividad vigente así lo estipula (DECRETO 4741, 2005).

### **3.3 Radicales libres**

En los seres vivos aerobios se generan continuamente radicales libres y especies reactivas de oxígeno tales como anión superóxido, radical hidroxilo y oxígeno singlete, derivados de procesos

fisiológicos normales, como la fosforilación oxidativa y como resultado de la exposición diaria a la radiación ionizante, la contaminación atmosférica, el humo del cigarrillo, entre otros (Rojano *et al.*, 2008).

Los radicales libres son especies muy reactivas que pueden dañar biomoléculas como carbohidratos, proteínas, lípidos, y ADN y, por consiguiente, afectar la membrana plasmática y organelos como la mitocondria y el núcleo celular (Choksi *et al.*, 2004).

La célula se protege de los radicales libres mediante la acción de sistemas enzimáticos antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la lactoferrina, la catalasa y la glutatión peroxidasa, y de sistemas no enzimáticos donde se incluyen antioxidantes como las vitaminas E y C, flavonoides y carotenoides provenientes de la dieta (Yilmaz *et al.*, 2003; Szeto *et al.*, 2002).

Sin embargo, cuando los radicales libres producidos en el organismo sobrepasan la capacidad de la célula para protegerse o repararse por sí misma, conducen al estrés oxidativo, el cual está asociado a enfermedades degenerativas o crónicas como el cáncer, la arterioesclerosis, la artritis reumatoidea, el mal de Parkinson, diabetes mellitus, envejecimiento y la infertilidad masculina (Mark & McCalland, 1999)

### **3.3.1 Especies reactivas del oxígeno ERO**

El oxígeno está directamente asociado a las condiciones de vida aerobia, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que involucra un peligro potencial debido a las características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una alta reactividad conocidas como “Especies Reactivas de Oxígeno” (ERO) (Gil del Valle, 2011).

Entre las ERO se encuentran los radicales libres (RL) cualquier especie molecular con uno o más electrones desapareados, (Zhu *et al.*, 2011) y moléculas derivadas del oxígeno que posean alta capacidad reactiva (Li *et al.*, 2011).

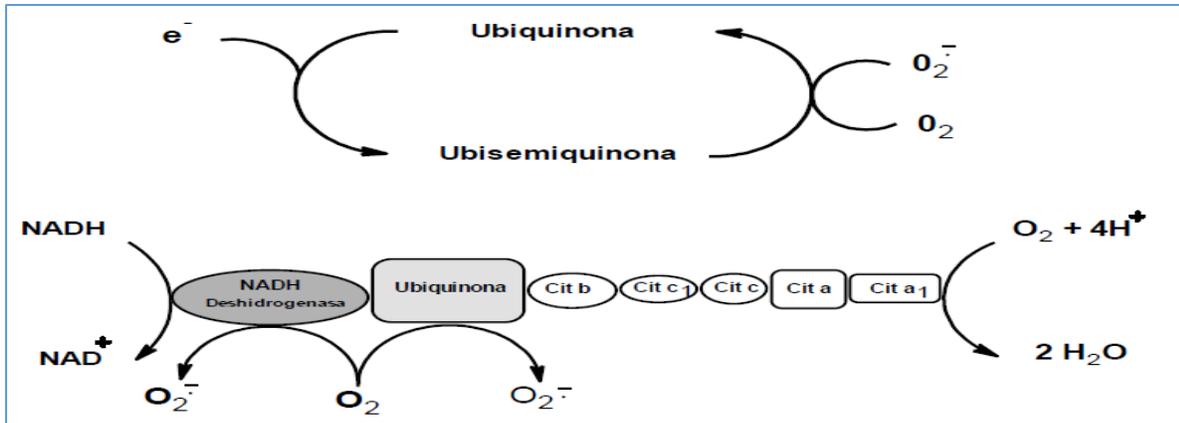
Bajo condiciones patológicas, niveles de EROS bastante elevados, se conocen como estrés oxidativo (Li *et al.*, 2011), dicho estrés es causante del daño en proteínas, membranas y ácidos nucleicos a nivel celular, perturbando el balance redox celular (Fransen *et al.*, 2011).

### **3.3.2 Principales fuentes o mecanismos generadores de ERO's.**

Los mecanismos fundamentales por los que se generan EROS son:

#### **a. Cadena de transporte electrónico mitocondrial**

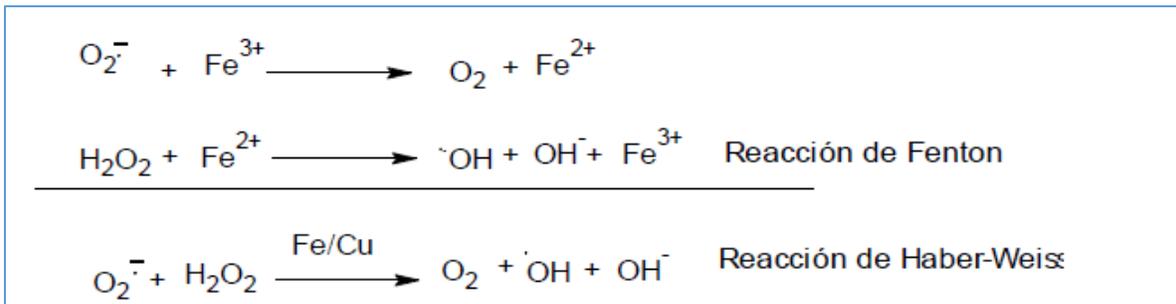
La mitocondria cumple con la mayoría de los requerimientos energéticos de la célula a través del metabolismo oxidativo (Carneiro *et al.*, 2012), la cual es considerada como la mayor fuente de ERO (Li, *et al.*, 2011), aproximadamente entre el 1-5% del oxígeno total consumido por la mitocondria es convertido en EROS por reducción parcial del oxígeno al anión radical superóxido ( $O_2 \bullet^-$ ) (Brawek *et al.*, 2010), como se describe en la figura 1.



**Figura 1. Producción del anión radical superóxido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial**

Fuente: (León de Fernandez, 2004)

b. Iones de metales de transición



**Figura 2. Reacciones de Fenton y Haber-weiss**

Fuente: (Tovar del Río, 2013).

c. Reacciones bioquímicas redox dependientes de O<sub>2</sub> que tienen lugar en el metabolismo celular Monoamino-oxidasa (MAO) (Tovar del Río, 2013).

d. Exceso de ejercicio físico, el consumo de O<sub>2</sub> por el organismo durante el ejercicio físico aumenta 20 veces y en el músculo esquelético hasta casi 100 veces, para incrementar la

producción de ATP por la fosforilación oxidativa mitocondrial (Pepe et al., 2009). EL aumento en la utilización del O<sub>2</sub> trae consigo un incremento en la generación de O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>.

e. La radiación ionizante proveniente de la atmósfera o de la radioterapia es absorbida fundamentalmente por el H<sub>2</sub>O (por su abundancia), produciéndose un gran número de especies reactivas (H•, •OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) en aproximadamente 10<sup>-9</sup> segundos luego de la exposición (Tovar del Río, 2013).

6. Pesticidas, contaminantes, humo de cigarrillo y algunos medicamentos (Tawaha et al., 2007).

### **3.3.3 Clasificación de ERO**

#### **3.3.3.1 Especies radicalarias**

Dentro de las especies radicalarias de mayor interés desde el punto de vista biológico están el radical anión superóxido (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>), hidroxilo (•OH), óxido nítrico (NO•), hidroperóxido (HO<sub>2</sub>•), peróxido (RO<sub>2</sub>•), alcoxilo (RO•) (Carocho & Ferreira, 2013).

#### **3.3.3.2 Especies no radicalarias**

Las especies no radicalarias de mayor interés biológico son: ácido hipocloroso (HOCl), peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y el oxígeno singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (Carocho & Ferreira, 2013).

### **3.4 Antioxidantes**

Se conoce con el nombre de antioxidante a toda sustancia que hallándose en bajas concentraciones, con respecto a la de su sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. El antioxidante al reaccionar con el radical libre cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con un efecto tóxico muy bajo o nulo y en

algunos casos la sustancia puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes (Halliwell, 1999).

Los antioxidantes pueden ser endógenos, fabricados por la propia célula, tales como el glutatión, la coenzima Q, ácido tióctico; y antioxidantes exógenos, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes como la vitamina E, C, betacarotenos y flavonoides (Halliwell, 1999). Dentro de los antioxidantes exógenos hay varias familias de compuestos activos como los polifenoles y los fitoestrogenos. Entre los polifenoles se encuentran los flavonoides y los taninos, ampliamente estudiados (Coronado *et al.*, 2005).

Dependiendo de la naturaleza del compuesto, un antioxidante puede prevenir la formación de radicales libres o especies reactivas (sistema de prevención), inhibir la acción de los radicales libres (sistema barrador) o favorecer la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (Dabrowska & Mir, 2009). Dentro de las biomoléculas encargadas en la reparación de estructuras dañadas encontramos a las enzimas endonucleasa apurinica-apirimidínica y polimerasa beta, reparadoras del ADN y la metionina sulfoxido reductasa.

Algunos antioxidantes como la quercetina, el  $\alpha$ -tocoferol, el  $\beta$ -caroteno y el ácido ascórbico han demostrado efecto protector contra una variedad de enfermedades como cáncer de esófago, úlcera estomacal y duodenal, infertilidad masculina y daño oxidativo inducido por endotoxinas (Sierens *et al.*, 2002; Da Silva, *et al.*, 2002; Wilms, *et al.*, 2005).

Para la correcta evaluación de un buen antioxidante este debe cumplir con muchos requisitos como: una alta solubilidad en el medio, una correcta orientación para interactuar con los radicales libres, orientarse adecuadamente en un sistema emulsificado (alimento), proteger los

lípidos oxidables, ser un buen reductor y funcionar con alta reactividad, efectividad a diferentes pH y, en general, debido a los diversos mecanismos del antioxidante en el sitio de acción (Prior *et al.*, 2005).

### **3.4.1 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos, son sustancias que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo, incluyendo derivados funcionales (ésteres, glucósidos, etc.) (Porras & López, 2009). Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles, siendo estos últimos los más comunes.

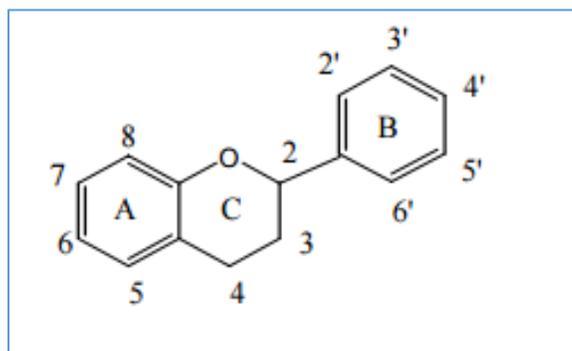
Las plantas y alimentos contienen una amplia variedad de derivados fenólicos incluyendo fenoles simples, fenilpropaoides, derivados del ácido benzoico, flavonoides, estilbenos, taninos, lignanos y ligninas. Dentro de las propiedades que se les confiere a los fenoles son la función de antibióticos, uso como pesticidas naturales, agentes protectores de los rayos UV y aislantes en las paredes celulares (Shadini & Naczki, 2004 citado por Porras & López, 2009).

### **3.4.2 Flavonoides**

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es amarillo, fueron descubiertos por el científico húngaro Albert Szent-Györgyi, premio nobel de fisiología y medicina en 1937 (Quiñones *et al.*, 2012), pertenecen a la mayor clase de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las plantas, muchos son componentes de pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo de daños que pueden ser causados por agentes oxidantes tales como los rayos ultravioletas, la polución y sustancias químicas presentes en las plantas (Martínez *et al.*, 2002). Entre flavonoides se pueden señalar las antocianinas (rojo-azulado de las fresas), catequinas (té verde y negro), citroflavonoides (naranja), isoflavonoides (genisteína y daidzeína) y protoantocianidinas (semillas de uva y

vino) (Coronado *et al.*, 2005). Las flavonoides son componentes de las plantas muy valiosos en la captura de radicales libres, debido a la gran cantidad de grupos hidroxilos presentes en su estructura.

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenil-pirano ( $C_6C_3C_6$ ), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos y por tanto son estructuras polifenolicas (Quiñones *et al.*, 2012).



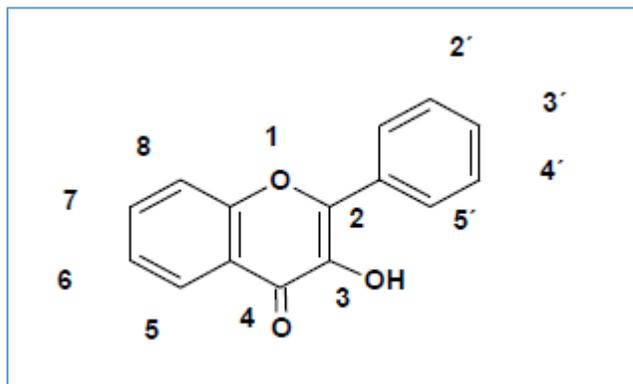
**Figura 3. Estructura de un Flavonoide**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012).

Químicamente, una actividad antioxidante óptima se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' del anillo B, los cuales confieren una elevada estabilidad al radical formado (Harborne & Williams, 2000) (Sánchez, 2002)

Existen varios subgrupos de flavonoides, la clasificación de dichos compuestos se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico (Anillo C) y de la posición del anillo B (Quiñones *et al.*, 2012). En función de la estructura química los principales subgrupos de flavonoides son:

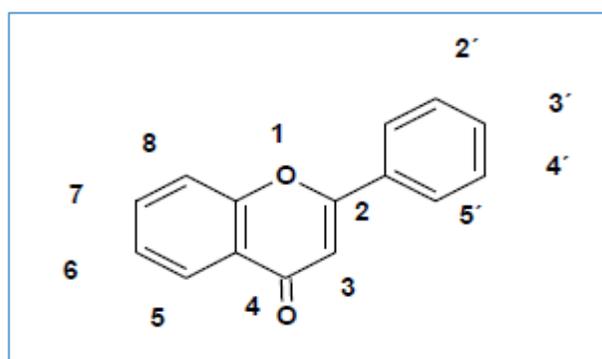
**Flavonoles:** caracterizados por poseer un grupo ceto en el carbono  $C_4$  y una insaturación entre los carbonos  $C_2$  y  $C_3$ . Es el grupo de polifenoles más común en los alimentos (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 4. Estructura química de los Flavonoles.**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012).

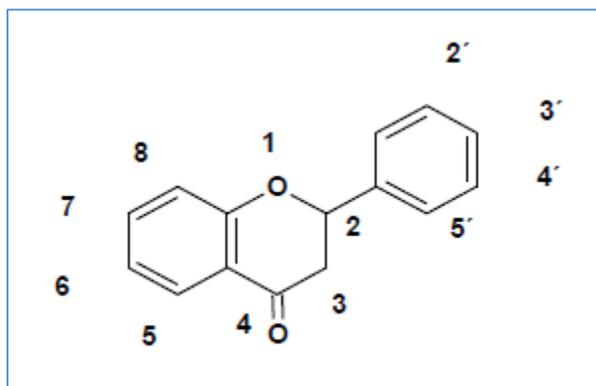
**Flavonas:** Posee un grupo ceto en el carbono  $C_4$  y unas insaturaciones entre los carbonos  $C_2$  y  $C_3$ . Son los flavonoides menos abundantes en los alimentos. Perejil y apio representan las dos únicas fuentes comestibles (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 5. Estructura química de las Flavonas**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012).

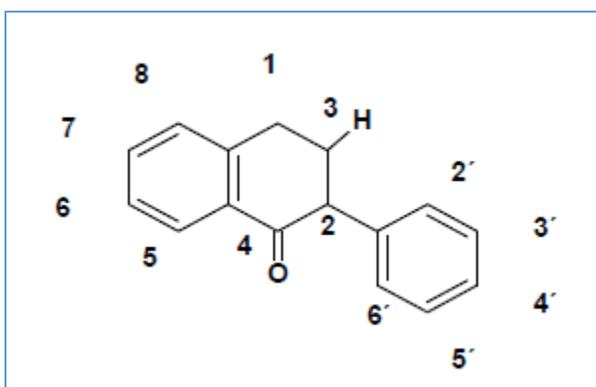
**Flavanonas:** Son análogos de las Flavonas con el anillo C saturado. Se encuentran en grandes concentraciones en cítricos y en tomates, y en ciertas plantas aromáticas con la menta (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 6. Estructura química de los Flavanonas.**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012).

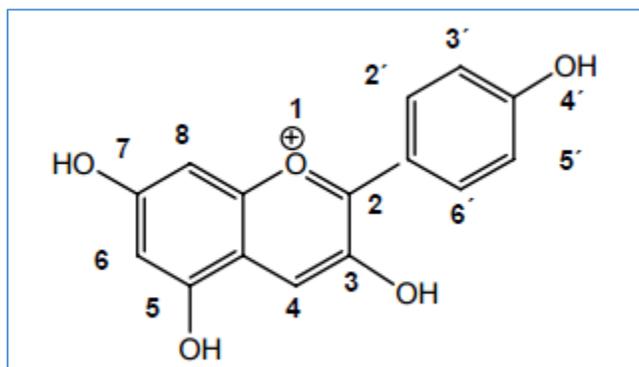
**Isoflavonas:** Poseen un anillo bencénico lateral en la posición  $C_3$  y grupos hidroxilos en los carbonos  $C_7$  y  $C_4$ . Se presentan exclusivamente en plantas leguminosas siendo la soja y sus derivados la principal fuente de estos compuestos (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 7. Estructura química de los Isoflavonas.**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012)

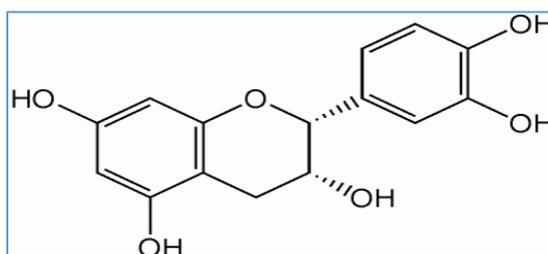
**Antocianinas:** Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se pueden encontrar en ciertos cereales, en el vino tinto y en algunos vegetales, aunque aparecen mayoritariamente en las frutas (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 8. Estructura química de las Antocianinas.**

Fuente: (Quiñones *et al.*, 2012)

**Flavanoles:** Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C<sub>3</sub>. Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. Los flavanoles más representativos en los alimentos son los flavan-3-ol, y estos pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre si y como oligómeros (procianidinas) o bien como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados) (Quiñones *et al.*, 2012).



**Figura 9. Estructura química de los Flavanoles.**

Fuente: (Quiñones, *et al.*, 2012)

Los flavonoides son efectivos donadores de hidrógenos, su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural (Miller & Rice, 1997), debido a la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones- $\pi$  (Ramírez *et al.*, 1999)

Estudios realizados con compuestos polifenólicos y especialmente los flavonóides demuestran su capacidad antioxidante y su significativa contribución en la dieta, así como su efecto en la prevención de diversas enfermedades tales como: enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y enfermedades neurológicas (Kuskoski *et al.*, 2004).

### **3.5 Métodos de extracción**

El empleo de métodos de tradicionales para la extracción de compuestos bioactivos a partir de fuentes naturales es una operación clásica muy utilizada en las industrias farmacéutica, cosmética y de alimentos (Rodríguez *et al.*, 2014). Las mayores limitaciones de la extracción convencional son los largos tiempo de extracción, el requerimiento de solventes costosos y de alta pureza, la evaporación de la enorme cantidad de disolvente, la baja selectividad de extracción y la descomposición térmica de compuestos termolábiles (Azmir *et al.*, 2013)

Para superar dichas limitaciones de los métodos de extracción convencionales, se ha venido introduciendo nuevas y prometedoras técnicas de extracción denominadas técnicas de extracción no convencionales. Algunas de las técnicas más prometedoras son la extracción asistida por ultrasonido, la extracción asistida por enzimas, la extracción asistida por microondas, extracción asistida por campo pulsado, extracción de fluido supercrítico y extracción líquida presurizada. Algunas de estas técnicas son consideradas como "técnicas verdes", ya que cumplen con las normas establecidas por la Agencia de Protección Ambiental (Azmir *et al.*, 2013).

### 3.5.1 Extracción convencional con disolventes

Se basa en la transferencia selectiva del compuesto de interés desde una mezcla sólida o líquida con otros compuestos hacia una fase líquida que normalmente está compuesta por un disolvente orgánico. El éxito de esta técnica depende de la diferencia de solubilidad en el disolvente de extracción entre el compuesto deseado y los otros compuestos presentes en la mezcla inicial (AGROWASTE).

Esta técnica se emplea mucho en la extracción de aceites esenciales, sin embargo posee importantes desventajas ya que requiere de tiempos relativamente largos y no se logra la purificación de los aceites esenciales quedando trazas de los disolventes usados en el proceso (Peredo *et al.*, 2009).

### 3.5.2. Hidrodestilación

La hidrodestilación es un método convencional utilizado en la extracción de compuestos bioactivos y aceites esenciales de plantas. Existen tres tipos de hidrodestilación: destilación con agua, destilación con agua y vapor y destilación directa de vapor. En todos estos tipos de hidrodestilación, los materiales vegetales se envasan en un compartimiento fijo, se agrega agua en cantidad suficiente y luego se lleva a ebullición. Alternativamente, se inyecta vapor directo en la muestra de la planta. El agua caliente y el vapor liberan los compuestos bioactivos del tejido vegetal, posteriormente se hace un enfriamiento indirecto con agua, que condensa la mezcla de vapor de agua y aceite, finalmente los componentes se separan. La hidrodestilación involucra tres procesos físico-químicos principales; hidrodifusión, hidrólisis y descomposición por calor. A una alta temperatura de extracción pueden perderse algunos componentes volátiles. Este inconveniente limita su uso para la extracción de compuestos termolábiles (Azmir *et al.*, 2013).

Esta técnica es un método sencillo y de bajo costo pero requiere largos periodos de tiempo y tiene bajos rendimientos (Peredo et al., 2009).

### **3.5.3 Extracción asistida por microondas**

La extracción asistida por microondas se considera un nuevo método para la extracción de productos solubles en un fluido de una amplia gama de materiales usando energía de microondas. Los microondas son campos electromagnéticos en la gama de frecuencias de 300 MHz a 300 GHz (Azmir *et al.*, 2013). Los microondas mejoran el rendimiento al aplicar un tratamiento térmico, que utiliza radiación electromagnética para generar calor dentro del material y que este se caliente en tiempos más cortos evitando una posible degradación de compuestos de interés al aplicar tratamientos de larga duración (AGROWASTE). Esta técnica reduce el consumo de energía, sin embargo a gran escala requiere altos niveles de seguridad (Peredo *et al.*, 2009).

### **3.5.4. Extracción con fluidos supercríticos**

La extracción con fluidos supercríticos es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones por encima de su temperatura y presión críticas (Peredo *et al.*, 2009). Un fluido supercrítico posee las propiedades de disolvente parecidas a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas. Un fluido supercrítico además de disolver solutos puede penetrar en los poros de los sólidos para facilitar la extracción de compuestos de interés al ser miscible con los gases (AGROWASTE).

### **3.5.5 Extracción con ultrasonido**

Los ultrasonidos son vibraciones mecánicas de un sólido, un líquido o un gas con una frecuencia superior a la audible por los humanos. Estas ondas solo se transmiten a través de la materia, ya que implica ciclos de expansión y compresión. El ultrasonido se encuentra en la región de frecuencias entre 18 kHz y 100 MHz (Peredo *et al.*, 2009).

En la industria de alimentos existen dos formas de aplicación del ultrasonido. En primer lugar, el ultrasonido de baja intensidad que se caracteriza por frecuencias mayores a 100 kHz con energías inferiores a  $1 \text{ W/cm}^2$ , el cual se usa como herramienta analítica para control de procesos o para obtener información de propiedades fisicoquímicas. El ultrasonido de alta intensidad hace uso de frecuencias menores a 100 kHz con energías superiores a  $10 \text{ W/cm}^2$ , el cual genera efectos en el material por la intensa cavitación que se genera (Pérez *et al.*, 2016).

Cuando se aplican ultrasonidos lo suficientemente intensos, los ciclos de expansión crean burbujas o cavidades en el líquido; Cuando una burbuja explota produce temperaturas y presiones muy elevadas que pueden llegar a los  $5500^\circ\text{C}$  y 500 atmosferas, lo que favorece la liberación de compuestos y la formación de radicales debido a la disociación del vapor atrapado en las burbujas en cortos periodos de tiempo con una disipación del calor muy rápida (Pérez *et al.*, 2016).

El principal beneficio de la extracción asistida con ultrasonido se puede observar en muestras de plantas sólidas porque la energía ultrasónica facilita la lixiviación de compuestos orgánicos e inorgánicos a partir de la matriz vegetal. El mecanismo probable es la intensificación ultrasónica de la transferencia de masa y el acceso acelerado del disolvente a los materiales celulares de las partes de la planta. El mecanismo de extracción por ultrasonido implica dos tipos principales de fenómenos físicos: la difusión a través de la pared celular y el enjuague del contenido de la célula después de romper las paredes. El contenido de humedad de la muestra, el grado de molienda, el tamaño de partícula y el disolvente son factores muy importantes para obtener una extracción eficaz. Además, la temperatura, potencia, la frecuencia y el tiempo de sonicación son los factores que rigen la acción del ultrasonido. El ultrasonido incorporado junto con varias técnicas clásicas, aumenta la eficiencia de un sistema convencional. En una unidad de extracción con disolvente, se

coloca un dispositivo de ultrasonido en una posición apropiada para mejorar la eficiencia de extracción (Azmir *et al.*, 2013).

Dentro de las ventajas de la aplicación de ultrasonido en la extracción de compuestos se encuentra el incremento de la eficiencia de la extracción, la reducción del tiempo de proceso, la reducción del riesgo de degradación térmica, cuando se realiza a temperaturas de 25°C (Peredo *et al.*, 2009), además de que la extracción asistida por microondas es la más económica y tiene los requerimientos instrumentales más bajos en comparación a las últimas técnicas de extracción desarrolladas (Rodríguez *et al.*, 2014).

### 3.6 Determinación de fenoles totales

#### 3.6.1 Método de Folin-Ciocalteu

El reactivo de Folin-Ciocalteu mide la capacidad para reducir el ácido fosfomolibdico/fosfotungstico a un complejo azul que es monitoreado por medio de la espectrofotometría bajo la siguiente reacción:



**Figura 10. Reacción de transferencia de electrones con el reactivo Folin-Ciocalteu.**

Fuente: (Tovar del Río, 2013)

En la reacción el Molibdeno es reducido en el complejo y se da la reacción de transferencia de electrones entre el Mo (VI) y el reductor. Este método implica la oxidación de fenoles en solución alcalina por el heteropolianion molibdotungstosfosforico amarillo y la medición colorimétrica de molibdotungstosfosfato azul restante (Tovar del Río, 2013).

En el ensayo Folin-Ciocalteu original, se usa el buffer de carbonato para ajustar el pH y el punto final de reacción se alcanza a los 120 min aproximadamente a temperatura ambiente. Aunque es un tiempo demasiado extenso y dificulta la implementación de un análisis de rutina, aún es utilizado (Tovar del Río, 2013).

### 3.7 Métodos de determinación de actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante en los alimentos es importante para definir el potencial antioxidante *in vitro* de éstos, antes de ser consumidos; así mismo permite definir su capacidad de protección frente a la oxidación y el deterioro del producto durante las etapas de almacenamiento y distribución que afecten la calidad organoléptica y composicional del mismo.

Los métodos de evaluación de actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres, asumen que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos, por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de los diferentes aditivos y extractos para la captura de radicales libres o la inhibición de su formación (Mosquera *et al.*, 2005). Las medidas de actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de lo que se desee obtener, las cuales son:

**Determinación directa:** El radical es empleado como un factor de cuantificación, el cual produce una señal analítica. La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal (Medina, 2010). Este principio es usado por los métodos más modernos para la determinación de la actividad antioxidante tales como ABTS y DPPH (Mosquera *et al.*, 2005).

**Determinación indirecta:** la presencia de radicales libres produce una pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal. Dentro de los métodos indirectos se tienen los métodos ORAC y FRAP (Medina, 2010).

### 3.7.1 Método DPPH

El método fue desarrollado por Brand y Williams en 1995 el cual utiliza el radical DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo) de color violeta. El método se basa en la disminución de la absorbancia medida a 517 nm producida por la reacción entre el antioxidante y el radical o por la reacción de radicales libres con el DPPH• (Kuskoski *et al.*, 2005):

El DPPH es un radical libre que se puede obtener directamente disolviendo el reactivo en un medio orgánico. La reducción del DPPH se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH absorbe a 517 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece.

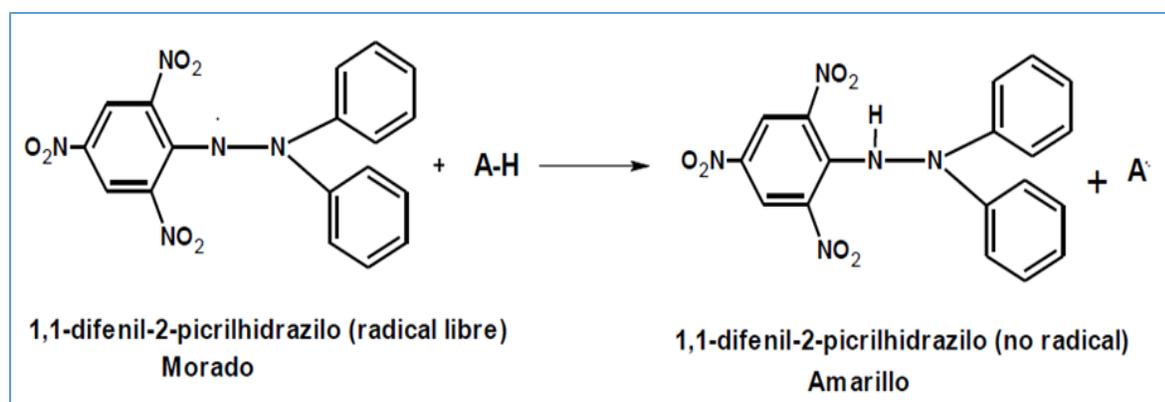
En consecuencia, la desaparición del DPPH proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales. El modelo que explica la actividad de un compuesto como antirradical se ejemplifica con la siguiente ecuación:



Donde AH es un antioxidante que actúa como antirradical donando átomos de hidrógeno, dando como resultado radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, tal es el caso de los fenoles. El nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A, A-A). La reacción entre el DPPH y un compuesto depende de la conformación estructural del mismo, por lo que las comparaciones cuantitativas no siempre son apropiadas.

Cuando se mezcla con una sustancia que puede donar uno o varios átomos de hidrógeno, la concentración del radical DPPH disminuye mientras aparece la forma reducida DPPH-H provocando un cambio en el color de morado a amarillo y la absorbancia de la solución decrece (Tovar del Río, 2013).

El procedimiento original para el ensayo DPPH• ha sido adoptado por muchos laboratorios y a pesar de que existen modificaciones a conveniencia, una revisión detallada de la literatura ha revelado que la mayoría de los estudios están basados en un tiempo de reacción de 20-30 min en vez de un tiempo de reacción total de 120 minutos requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox (Ojha *et al.*, 2012).



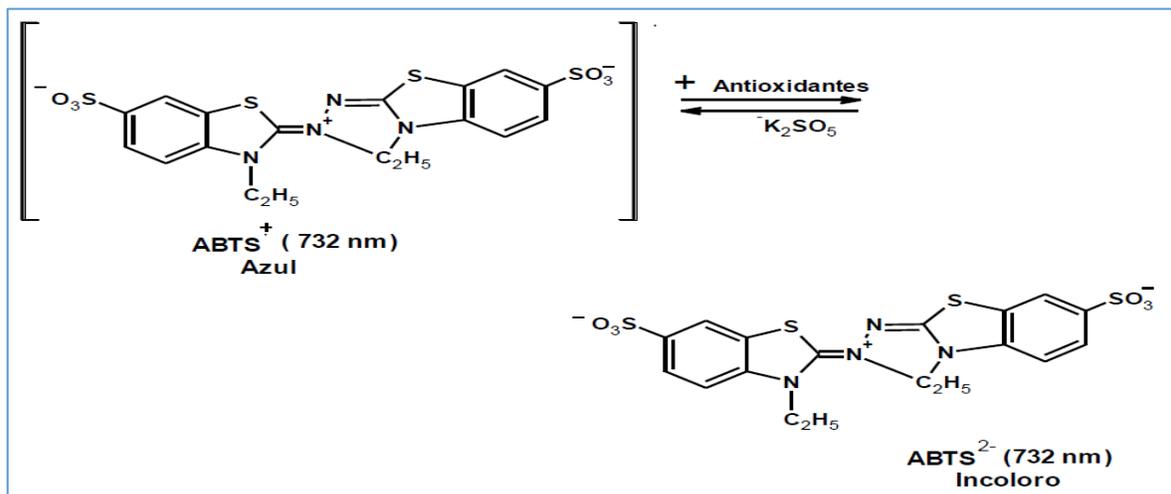
**Figura 11. Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante**

Fuente: (Alam, *et al.*, 2012)

### 3.7.2 Método ABTS

El radical ABTS•+ se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable con un espectro de absorción en el UV-visible con picos máximos de absorción a 414, 654, 754 y 814 nm (Kuskoski *et al.*, 2005); el radical se forma a través de la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio  $K_2S_2O_8$ . La adición de los antioxidantes al

radical pre-formado lo reduce a ABTS (Tovar del Río, 2013). La ventaja de este método es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente más apropiado para cada caso (Medina, 2010).



**Figura 12. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante**

Fuente: (Zuleta *et al.*, 2009)

La absorbancia inicial se determina a 754 nm pasado 1 minuto, posteriormente la absorbancia se mide de forma continua transcurridos 7 minutos (Kuskoski *et al.*, 2005)

El radical  $ABTS^{\bullet+}$  es más indicado para ensayos de compuestos coloreados, como el caso de los antocianos, por presentar absorción máxima, próxima a la región infrarroja (734nm) reduciendo posibilidades de interferencias de compuestos coloreados que absorben en la región del visible o compuestos resultantes de reacción secundaria (Kuskoski *et al.*, 2004)

### 3.7.3 Método ORAC

El ensayo de ORAC (Capacidad atrapadora de radicales de oxígeno) se basa en gran parte en el trabajo descrito por el laboratorio de Glazer (Delange y Glazer, 1989; citado por Sánchez,

2002) y depende de las propiedades de la ficoeritrina, que se utiliza como un blanco de los radicales libres. En el ensayo ORAC se cuantifica la capacidad antioxidante calculando el área de protección neta bajo la curva de decaimiento de fluorescencia de ficoeritrina registrada en el tiempo en presencia de antioxidante. Se usa AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro) el cual sufre una descomposición térmica para producir nitrógeno molecular y radicales alquilo, que en presencia de oxígeno generarán radicales peroxilo, los cuales reaccionan con una sonda coloreada o fluorescente para formar un producto incoloro o no fluorescente (Londoño, 2012). El ensayo de ORAC combina tanto el tiempo de inhibición como el porcentaje de inhibición de la acción radical de los antioxidantes usando la técnica de área bajo la curva para la cuantificación. Este ensayo expresa los resultados como unidades de ORAC o equivalentes de Trolox, que corresponden a la cantidad de micromoles de Trolox que tienen la misma actividad antioxidante que un litro de la solución ensayado (Sánchez, 2002).

#### 4. ANTECEDENTES

Torres (2012) determinó la composición físicoquímica y de compuestos bioactivos del tomate de árbol encontrando que los sólidos solubles totales de la pulpa madura del fruto fue de 10,51 °Brix, un pH de 3.5, acidez de 0,02 g/100 ml y fuerza de compresión de 4,32 Kg/cm<sup>2</sup>. En cuanto a actividad antioxidante se halló un EC<sub>50</sub> de 165 g/g DPPH y poder reductor de 0,07 mmol Fe<sup>+2</sup>/100 g, la cual pudiese atribuirse al contenido de ácido ascórbico (23,32 mg/100g), licopeno (122 mg/100 g), antocianinas (0,29 g/100 g) y taninos (0,40 mg de catequina/100 g). Para la determinación de fenoles totales Torres hizo una extracción de los compuestos en pulpa madura con metanol al 80% acidificado obteniendo 1,39 mg GAE/g.

Castro y colaboradores (2013) emplearon el epicarpio del tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) como fuente de compuestos con actividad antioxidante en carne de res cocida (CBM). A partir de extractos de tomate de árbol por extracción con fluidos supercríticos (SFE) y extracción Soxhlet (SE). La SFE se realizó utilizando CO<sub>2</sub> puro a diferentes temperaturas y presiones (40 y 50 °C; 10, 20 y 30 MPa) y adición de CO<sub>2</sub> con etanol (CO<sub>2</sub> / EtOH) como co-disolvente (2, 5 y 8%, w/w). El extracto obtenido por SFE con CO<sub>2</sub> / EtOH (50 °C / 30 MPa y 2% de EtOH) mostró la mayor AA. En SFE, la adición del co-disolvente mejoró considerablemente la AA y el rendimiento de extracción. Los extractos obtenidos por SFE con CO<sub>2</sub> / EtOH mostraron una mejor AA en comparación con el TBHQ antioxidante sintético. Los valores más altos de rendimiento se consiguen mediante SE con etanol (7,7 ± 0,4%) y por SFE con 5% de EtOH (1,9 ± 0,1%). Los resultados indican que los extractos del epicarpio tomate de árbol son una fuente potencial de compuestos antioxidantes (Castro *et al.*, 2013).

Sánchez y colaboradores (2010) estudiaron la actividad antioxidante de los residuos agroindustriales de mora de castilla (*Rubus glaucus*), maracuyá (*Passiflora edulis*) y tomate de

árbol (*Cyphomandra betacea*), residuos que fueron secados y triturados y luego sometidos a maceración etanólica para la obtención de los extractos. Determinaron que los residuos de mora son los mayores aportantes de fitofenoles con 126,9 mg GAE/gvs (gramos de vegetal seco), seguido de tomate de árbol con 14,51 mg GAE/gvs y maracuyá con 8,646 mg GAE/gvs. Igual orden se pudo establecer respecto a contenido de antocianos totales con 1,594 mg EC3G/gvs, 0,575 mg EC3G/gvs y 0,094 mg EC3G/gvs, respectivamente. Concluyeron que existe una relación directa entre el contenido de fenoles y antocianos totales con la capacidad antioxidante al comprobar que la mora es la que posee el mayor poder antioxidante  $CI_{50}$  de 18,23 seguido de tomate de árbol 117,9 y maracuyá 747,9 al igual que la mayor capacidad reductora de iones metálicos así como la mayor actividad antinitrosativa.

Repo & Encina (2008) determinaron el contenido de fibra, el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en tuna, aguaymanto, tomate de árbol y papaya de monte, utilizando la pulpa de las frutas y haciendo extracción con metanol durante 24 horas a 4°C para la obtención de los extractos. Realizando una extracción convencional con metanol encontraron que el contenido de fenoles totales de tomate de árbol fue de  $130 \pm 0,8$  mg GAE/100 g de muestra. (Repo & Encina, 2008). El tomate de árbol tiene un gran contenido de fibra 4,5 g/100 g de muestra además de que el contenido de proteínas tanto en el tomate de árbol como en el aguaymanto es el mayor en el estudio con 1,9 g/100 g. En cuanto a actividad antioxidante medida por el método DPPH, el tomate de árbol posee 853,32 g TE/g de tejido, mientras que con el método ABTS se reportó valores de 838 g TE/g de tejido (Repo & Encina, 2008).

Espin y colaboradores (2016) determinaron el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de cuatro cultivares de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). En dicho estudio encontraron que la composición fenólica de los frutos de tomate de árbol se caracteriza por la

presencia de derivados de hidroxicinamoil con valores que llegan hasta los 421,55 mg/100 g peso seco en cultivares de Nueva Zelanda, entre los cuales el ácido 3-O-cafeoilquínico y ácido rosmarínico eran los compuestos en mayor concentración. Otros compuestos fueron identificados tentativamente como diferentes glucósidos de ácido rosmarínico, caffeoil-glucósido, feruloil-glucósido y ácido ferúlico. Las principales antocianinas fueron Pelargonidina 3-O-rutinósido y delphinidina 3-O-rutinósido en cultivares de color púrpura de fruto de tomate. Es de destacar la identificación de ácido rosmarínico, ya que constituye un compuesto fenólico en la mayoría de los cuatro cultivares de tomate de árbol estudiados y se reconoce como un poderoso antioxidante a la que se han atribuido las actividades biológicas relevantes. Para el estudio de compuestos fenólicos hicieron extracción asistida con ultrasonido con metanol al 75% durante 30 minutos. Las muestras analizadas mostraron valores relativamente altos de capacidad antioxidante, sin embargo la pulpa extraída de cultivares de Nueva Zelanda presenta los mayores valores de actividad antioxidante FRAP (50  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa seca), ABTS (89  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa seca) y los ensayos de ORAC (325  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa seca), que podría estar relacionado con su composición fenólica.

Acosta y colaboradores (2015) estudiaron la composición química incluyendo un análisis proximal, determinación de azúcares solubles, ácidos orgánicos, clorofilas, carotenoides, fenoles totales, actividad antioxidante y minerales, en diferentes variedades de tomate de árbol obtenidos de cinco grupos de cultivares. Determinaron que el contenido de humedad en la pulpa de tomate de árbol oscila entre 86,1% y 87,7, los sólidos solubles totales promedio en el fruto es de 11,3% y posee un contenido de proteína de 9,58 g/100 g. Analizando pulpa liofilizada establecieron que el color de la pulpa del tomate de árbol depende del contenido en clorofilas (contenido de clorofila *a* 0,66 mg/100 g y clorofila *b* 1,53 mg/100 g), carotenoides (2,60 mg/100 g a 11,20 mg/100 g) y

antocianinas. Los valores de actividad antioxidante DPPH variaron considerablemente en las muestras con valores que oscilan entre 12,2 a 48,7  $\mu\text{mol TE/g}$ . Los tomates con semillas rojas y púrpura tienen un contenido fenólico mayor; dichos compuestos son los principales antioxidantes de la pulpa del fruto, a pesar de que tiene cantidades apreciables de ácido ascórbico.

Ghafoor y colaboradores (2009) extrajeron componentes funcionales mediante tecnología de extracción con ultrasonido de semillas de uva Campbell Early seca a 50°C. Determinaron las mejores combinaciones posibles de concentración de etanol, temperatura de extracción y tiempo de extracción con la aplicación de ultrasonidos para obtener la máxima extracción de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antocianinas utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM). Las condiciones óptimas obtenidas para la extracción asistida por ultrasonidos a partir de semilla de uva incluyen 53,15% de etanol, temperatura de 56,03 °C y tiempo de 29,03 min para los compuestos fenólicos totales máximos (5,44 mg GAE/100 mL); 53,06% de etanol, 60,65°C de temperatura y 30,58 min de tiempo para la máxima actividad antioxidante (Ghafoor *et al.*, 2009).

Stajčić y colaboradores (2015) determinaron el contenido de carotenoides bioactivos y la actividad antioxidante de los residuos del procesamiento de jugo de tomate de mesa (genotipos *Bačka*, *Knjaz*, *Novosadski niski*, *Rutgers* y *San Pedro*). La determinación por cromatografía líquida de alta resolución dio como resultados que las muestras evaluadas tenían altas concentraciones de licopeno y beta-carotenos; los residuos de tomate Knjaz tiene el mayor contenido de licopeno (15,69 mg/g), mientras que los residuos de tomate Bačka el mayor contenido de beta-carotenos (11,95 mg/g). La actividad antioxidante de los residuos de tomate depende del genotipo y de la concentración del extracto; La decoloración del radical DPPH fue casi completa con la adición de 0,1 mg/ml de extracto Bačka, 0,2 mg/mL de Knjaz y de 0,5

mg/mL de Saint Pierre. Los extractos presentan una buena actividad de eliminación del radical DPPH sin embargo es menor al del BHA (Compuesto usado como componente control). La concentración inhibitoria 50 para poder reductor fue mayor en los residuos del tomate Bačka, sin embargo el antioxidante sintético BHA tiene un poder reductor significativamente mayor.

Kabir y colaboradores (2015) determinaron la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de muestras de residuos y subproductos de 26 especies de frutas y vegetales obtenidos mediante extracción con agua caliente y extracción con etanol. En dicho estudio encontraron una relación directa entre el contenido de fenoles de los extractos y la actividad antioxidante, además hallaron que la mayoría de los extractos de los residuos de frutas y vegetales, y los subproductos exhibieron actividades antioxidantes potentes en los ensayos de captura de radicales libres DPPH y radicales peroxilo AAPH, concluyendo que los residuos de frutas y vegetales, y los subproductos son una fuente potencial de antioxidantes naturales. El mayor contenido de fenoles se encontró en el extracto obtenido con agua caliente a partir de semillas de uva con 43,9 mg ChAE/g seguido del extracto etanólico de cascara de trigo con 38,0 mg ChAE/g; en el ensayo DPPH, las semillas de uva presentaron la mayor capacidad antioxidante con 10,5 ug/mL seguido del extracto etanólico de ciruela inmadura con 15,2 ug/mL y extracto etanólico de cascara de trigo con 37,6 ug/mL.

Contreras y colaboradores (2011) determinaron la actividad antioxidante, fenoles totales y contenido de ácido ascórbico de la parte comestible y no comestible (semillas y cascara) de 24 frutas exóticas colombianas obtenidas de diferentes áreas del país. Establecieron que la capacidad antioxidante de la parte comestible de los frutos está en el rango de 3,25 y 175  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco en el ensayo FRAP y de 6,29 y 114  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco en el ensayo ABTS mientras que la capacidad antioxidante de las semillas de las frutas en el ensayo FRAP

arrojo valores entre 1,40 y 1690  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco y en el ensayo ABTS dichos valores estuvieron comprendidos en el rango 4,92 a 1700  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco; la actividad antioxidante en la cascara osciló entre 8,04 y 273  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco en el ensayo FRAP y 14,6 y 428  $\mu\text{mol}$  de TE/g de peso en fresco en el ensayo ABTS. En cuanto al contenido de fenoles la parte comestible de las frutas mostró valores entre 15,7 y 1018, las semillas valores comprendidos entre 20,4 y 4851, mientras que el contenido de fenoles en la cascara osciló entre 61,5 a 1712 mg GAE/100 g of FW. Contreras y colaboradores (2011) concluyeron que el contenido de fenoles es mayor en la cascara que en la pulpa, además que muchos subproductos de frutas Colombianas podrían ser usados en la industria alimenticia, farmacéutica y la industria cosmética para el desarrollo de diferentes productos debido a su alto potencial antioxidante.

Esparza y colaboradores (2016) determinaron el efecto de los tratamientos a altas temperaturas sobre la composición fenólica y la actividad antioxidante de los residuos de lima (*Citrus x aurantifolia*) incluyendo el albedo, flavedo, las membranas capilares y los residuos de pulpa después de la extracción del zumo. En residuos de lima sin secar la cantidad de compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles fue de 21,61% GAE/g y 8,72 GAE/g respectivamente y aumentaron cuando se optó por secar las muestras a temperatura de secado de 120°C llegando a 26,47 GAE/g de fenoles totales extraíbles y 36,81 EAG/g no extraíbles. Se identificaron 17 compuestos fenólicos simples extraíbles o no extraíbles, incluyendo 10 ácidos fenólicos, 3 flavonoides y cuatro flavonoides. Del total de compuestos la hesperidina, naringina, y eriocitrina fueron los flavonoides en mayor cantidad seguido de naringenina. Respecto a la actividad antioxidante, los valores de DPPH oscilaron entre 122,28 a 294,92  $\mu\text{M}$  TE/g DW para fenoles

extraíbles y de 659,68 a 683,54  $\mu\text{M TE/g DW}$  en fenoles no extraíbles. La mayor capacidad antioxidante medida por el método ABTS fue de la parte no extraíble con 883,56  $\mu\text{M TE/g DW}$ .

Wong y colaboradores (2014) determinaron el contenido de fenoles de totales y actividad antioxidante de la cascara de maracuyá a diferentes condiciones de extracción. Con base en las diferentes concentraciones de etanol usado en la extracción, determinaron que la maracuyá posee una amplia gama de compuestos fenólicos con diferentes polaridades y que al hacer la extracción de los compuestos con alcohol a una concentración de 40% se logra una mayor captación de radicales libres DPPH. Respecto al tiempo óptimo de extracción Wong lo estableció en una hora ya que extracciones más largas pueden aumentar la oxidación de compuestos fenólicos y por ende influir en los ensayos DPPH. En cuanto a temperatura la investigación dio como resultado que a 30°C se obtiene la mayor extracción dado que un aumento de la temperatura aumenta la energía de disociación del enlace de los compuestos fenólicos, así como mejoras de solubilidad y del coeficiente de difusión de los compuestos, sin embargo temperaturas por encima de los 40°C, puede ocasionar una cierta evaporación del disolvente orgánico y la degradación de compuestos bioactivos. Bajo las condiciones óptimas se determinó que la cascara de maracuyá tiene un contenido fenólico total de 15,84  $\mu\text{g GAE/g}$  con una actividad antioxidante moderada en el ensayo FRAP 30,94  $\mu\text{g TE/g}$  por lo cual podría ser considerada como buena fuente de antioxidantes y podría ser usada como una potencial fuente de ingredientes farmacéuticos.

Sun y colaboradores (2012) estudiaron el color, pH, sólidos solubles totales (SST), contenido de pectina, contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos generados a partir de los desechos de frejola (principalmente piel y algo de carne). Determinaron que en los extractos de los residuos de frejola contiene compuestos bioactivos beneficiosos como la floretina, ácido clorogénico, quercetina, entre otros. Dichos extractos serían adecuados como

ingredientes para aplicaciones de alimentos funcionales. Soluciones de etanol acuoso con la relación en volumen de 1:1 (etanol 50%) fue el medio de extracción más deseable para la producción de extractos con la actividad antioxidante más alta y con el mayor contenido de polifenoles. La abundancia de floretina sugiere que los residuos de frejjoa son una alternativa a la piel de manzana como fuente de este polifenol. La actividad antioxidante de los extractos estuvo en el rango de 0.92 y 2.32 mg Trolox Equivalentes/g de extracto seco.

Moreno y colaboradores (2014) determinaron la capacidad antioxidante por métodos químicos (DPPH y FRAP) y por métodos biológicos (oxidación de LDL y curvas de crecimiento de *Sacchamyses cerevisiae* en extractos de curuba, gulupa, aguacate variedad Hass, lulo, tomate de árbol y uchuva. Moreno y colaboradores determinaron que la curuba es la fruta con el mayor contenido fenólico seguido de aguacate y tomate de árbol. La actividad antioxidante medida con el método DPPH es mayor en el aguacate y la curuba, mientras que por el método FRAP las frutas con mayor capacidad antioxidante son la curuba, el lulo y el tomate de árbol.

Rojas y colaboradores (2014) determinaron las condiciones óptimas para la extracción de compuestos fenólicos de mora de castilla (*Rubus glaucus*) liofilizada respecto al tipo de solvente y su concentración en agua, y el tiempo de extracción asistida con ultrasonido. Establecieron que al realizar la extracción con acetona en solución acuosa al 31% y un tiempo de extracción de 100 minutos en un baño ultrasónico a 37 kHz de frecuencia y 35 W de potencia, se obtiene el mayor contenido de compuestos fenólicos 30 mg GAE/g peso seco y el mayor valor de capacidad antioxidante 273 mmol Trolox/g peso seco.

Kuskoski y colaboradores (2005) determinaron la capacidad antioxidante de pulpas de frutos congelados comercializados en el sur de Brazil, tales como mora (*Morus nigra*), uva (*Vitis vinifera*), açai (*Euterpe oleracea* Mart.), guayaba (*Psidium guajava*), fresa (*Fragaria vesca* var.),

acerola (*Malpighia glabra* Linn.), piña (*Ananas comosus* L.), mango (*Mangifera indica* L.), graviola (*Anona muricata* L.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) y maracuyá (*Passiflora* sp), además compararon la relación entre el contenido de fenoles totales y antocianos aplicando los métodos químicos disponibles: ABTS, DMPD y DPPH. Determinaron que las pulpas de mora y uva presentan el mayor contenido de antocianos y las pulpas de acerola y guayaba el menor, mientras que piña, mango, graviola, cupuaçu y maracuyá no contienen estos compuestos; en cuanto al contenido de polifenoles totales. Los extractos de pulpa de acerola y mango contienen la mayor cantidad, mientras que las pulpas de açaí, fresa, mora y uva muestran contenidos más bajos, aunque también son elevados en relación a otros productos alimenticios. Kuskoski y colaboradores encontraron que en su orden las pulpas de acerola y mango son las que presentan mayor actividad antioxidante seguidas de fresa, acai y uva.

Espinal y colaboradores (2010) estudiaron el contenido de fenoles en 4 variedades de guayaba (Regional Roja, Regional Blanca, Guavata Victoria y Palmira ICA-1) en diferentes estados de madurez, determinando la capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS, DPPH, FRAP y beta-caroteno. Sometió a reflujo a 50°C durante 30 minutos con etanol al 50% en agua, seguido de cuatro lavados del residuo con acetona al 70% en agua. Los investigadores determinaron que el contenido de fenoles aumenta en guayaba Regional blanca y Palmira ICA-1 durante los estados de desarrollo hasta la maduración, para luego disminuir cuando la fruta está sobremadura. Para guayaba regional roja el contenido de fenoles aumentó al pasar de verde a pintón y disminuyó de maduro a sobremaduro. Los materiales de guayaba estudiados presentaron altos contenidos de fenoles libres (322 mg GAE/100g de pulpa) comparados con los reportados en otras frutas tropicales, tales como el lulo y el maracuyá; en cuanto a actividad antioxidante por ABTS (48,57  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa) y DPPH (20,20  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa), la guayaba muestra

niveles intermedios comparados con las anteriores frutas. Espinal concluye que los resultados muestran que todos los materiales de guayaba en estado maduro poseen una buena capacidad antioxidante, por tanto el consumo del fruto fresco o los fenoles obtenidos a partir de éste, pueden ser aplicados como aditivos a los alimentos, para así constituir una fuente natural de nutrientes funcionales que ayuden a prevenir el deterioro oxidativo en el consumidor.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

- Caracterizar la cascara en polvo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y determinar la actividad antioxidante.

### 5.2 Objetivos específicos

- Determinar las características fisicoquímicas de cascara molida de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).
- Evaluar el efecto del proceso de extracción asistido con ultrasonido sobre el rendimiento de la extracción de polifenoles presentes en la cascara de tomate de árbol.
- Determinar la actividad antioxidante de la cascara de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) a través de los métodos DPPH, ABTS y ORAC.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Localización

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Evaluación y Conservación de la Calidad de Alimentos perteneciente al grupo de apoyo a la investigación y desarrollo agroalimentario (GAIDA) adscrito a la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño sede Torobajo, Pasto (Nariño) ubicado en la ciudad a una altitud 2527 m.s.n.m.

### 6.2 Materia prima

Las cascaras de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) se obtuvieron de los desechos generados en los restaurantes “Parrilla Chipichape” y “Bistró Cocina Fusión” de la ciudad de San Juan de Pasto y se llevaron a las instalaciones de la Universidad de Nariño.

### 6.3 Acondicionamiento de materia prima

#### 6.3.1 Lavado y adecuación de las cascaras

Se eliminó de las cascaras de tomate de árbol las sustancias solidas como residuos de tierra, fibras y el pedúnculo. Posteriormente se retiró la pulpa adherida a las cascaras manualmente con la ayuda de cuchillos y se lavaron con abundante agua.



**Figura 13. Recepción y acondicionamiento de materia prima**

Fuente: (Este estudio)

### 6.3.2. Secado de las cáscaras de tomate de árbol

El secado se llevó a cabo en un horno convector marca PIRON 4003, a una temperatura de 50°C durante 24 horas a una velocidad de aire de 8 m/s.



**Figura 14. Secado de cáscaras de tomate de árbol**

Fuente: (Este estudio)

### 6.3.3. Reducción de tamaño

La reducción de tamaño de las cáscaras secas se realizó en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño con un molino de cuchillos (IKA WORKS INC – M20). Posteriormente el material molido se tamizó a través de una malla de 180  $\mu\text{m}$ .



**Figura 15. Reducción de tamaño de cáscaras de tomate de árbol.**

Fuente: (Este estudio)



**Figura 16. Tamizaje de cáscaras de tomate de árbol.**

Fuente: (Este estudio)

### **6.3.4 Empaque y almacenamiento**

El material granulado se empacó en bolsas de polietileno resellable y se almacenó en un refrigerador a 4°C hasta el momento en que se realizaron las pruebas fisicoquímicas y la extracción de compuestos fenólicos.

## 6.4 Propiedades fisicoquímicas

### 6.4.1. Análisis bromatológico

El análisis bromatológico de las cáscaras de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) se llevó a cabo en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, donde se empleó la metodología para análisis químico de alimentos basándose en las técnicas AOAC (1997). En el análisis se reporta datos de materia seca, carbohidratos, proteína total, grasa, fibra, ceniza y energía, entre otros.

### 6.4.2. Índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento

Para la determinación del índice de absorción de agua, el índice de solubilidad en agua y el poder de hinchamiento se siguió la metodología utilizada por Rodríguez y colaboradores (2012). El material molido se pasó por una malla de 180  $\mu\text{m}$  para normalizar el tamaño de la muestra, luego se pesó en un tubo de centrifuga 0,5 g de muestra utilizando una balanza analítica OHAUS PA 214C, se adicionó 6 g de agua destilada a 30°C y se disolvió en un baño con agitación durante 30 min. Posteriormente se centrifugó a 5.000 rpm por 20 minutos en una centrifuga refrigerada DYNAMIC 18R. El sobrenadante se decantó, se midió su volumen, se filtró y se tomó 2 mL de filtrado que se dejó secar a 90°C por 4 horas. El gel retenido en los tubos se pesó. El índice de absorción de agua (IAA), el índice de solubilidad en agua (ISA) y el poder de hinchamiento (PH) se determinaron de acuerdo con las ecuaciones que se indican a continuación:

$$IAA = \frac{\text{Peso del gel (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

$$ISA (\%) = \frac{\text{Peso seco del sobrenadante (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100$$

$$PH = \frac{\text{Peso del gel (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)} - \text{Peso seco del sobrenadante (g)}}$$



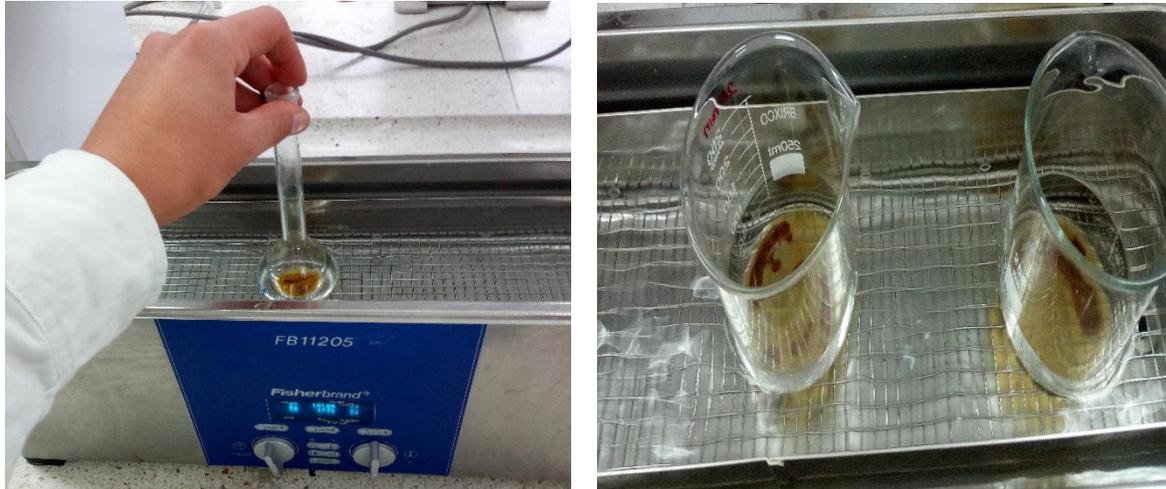
**Figura 17. Secado de sobrenadante a 90°C en mufla para determinar el ISA.**

Fuente: (Este estudio).

## **6.5 Determinación de fenoles totales**

### **6.5.1 Extracción de fenoles.**

La extracción de los compuestos fenólicos de la cascara molida de tomate de árbol por medio de ultrasonido se llevó a cabo en un equipo Fischerbrand FB 11205 a temperatura ambiente y a diferentes frecuencias, potencia efectiva y tiempos de extracción (diseño experimental numeral 6.7). Se pesaron 0,5 g de cascara de tomate en polvo en un beaker de 50 mL, se le adicionó 10 mL de solvente (solución acuosa de etanol al 60%), y se dispuso la suspensión en un baño ultrasónico.



**Figura 18. Baño ultrasónico de la suspensión**

Fuente: (Este estudio)

Posteriormente, las muestras se sometieron a centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min y se almacenaron a 4°C en ausencia de luz hasta la determinación del contenido de fenoles totales por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Rojas *et al*, 2014) (Estrada *et al.*, 2012).



**Figura 19. Centrifugación de la suspensión.**

Fuente: (Este estudio)

### 6.5.2 Medición de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu

El ensayo de medición de fenoles totales se realizó acorde a la metodología de Kuskoski (2005). 100  $\mu\text{L}$  de las muestras de ensayo, se mezclaron con 500  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,5 mL de solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20%. Se aforó con agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 10 mL. La mezcla se agitó y se mantuvo durante 2 horas a temperatura ambiente y protegida de la luz. Posteriormente se midió la absorbancia a 765 nm. Las soluciones acuosas de ácido gálico se utilizaron para la calibración. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalentes (GAE) por gramo de materia seca (mg de GAE/g de materia seca).



**Figura 20. Reacción de Folin-Ciocalteu.**

Fuente: (Este estudio)



**Figura 21. Medición de la absorbancia a 765 nm.**

Fuente: (Este estudio)

Para el presente estudio se tomó la curva de calibración utilizada en el Laboratorio de Evaluación y Conservación de la Calidad de Alimentos perteneciente al Grupo de apoyo a la investigación y desarrollo agroalimentario (GAIDA), de la cual se obtuvo la ecuación  $y=0,0013x+0,0352$  con un ajuste de 0,9961.

### **6.6 Determinación de actividad antioxidante**

La medición de actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y ORAC se llevó a cabo en el laboratorio AOX-LAB de la ciudad de Medellín. Para ello se realizó una extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos responsables de la actividad antioxidante a una concentración de 1:20 m/v bajo condiciones óptimas de frecuencia, potencia y temperatura dentro de los niveles estudiados que proporcionaron la mayor eficiencia en la extracción de fenoles totales determinados por el método Folin-Ciocalteu. Posteriormente se colocó el extracto dentro de un recipiente ámbar y se envió la muestra para análisis. En el laboratorio la medición de la actividad antioxidante por los diferentes métodos se realizó de acuerdo a la siguiente metodología.

### **6.6.1 Medición de la actividad antioxidante DPPH.**

Para llevar a cabo este procedimiento se preparó una solución de DPPH 0,1 mM en etanol, posteriormente se tomó 5 mL de esta solución y se incubó a temperatura ambiente durante 7 min y se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10 UV. Dicho valor se tomó como absorbancia inicial. La curva de calibración se realizó adicionando 500  $\mu$ L de solución patrón de Trolox en etanol a concentraciones desde 2 hasta 70  $\mu$ M, 870  $\mu$ L de etanol y 130  $\mu$ L de solución de DPPH. Para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos se tomó 130  $\mu$ L de solución DPPH, 870  $\mu$ L de etanol y 500  $\mu$ L del extracto etanólico. La solución se agitó en vortex durante 30 segundos y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaron como micromoles de Trolox equivalentes (TEs) por gramo de peso fresco ( $\mu$ mol de TEs/g de peso fresco).

### **6.6.2 Método ABTS**

#### **6.6.2.1 Generación del radical ABTS.**

Para la generación del anión ABTS se tomó 77,6 mg de ABTS y 20 mL de agua destilada (Solución acuosa 7 mM) se homogenizaron en un frasco ambar con 13,2 mg de persulfato de potasio y se cubrieron con papel aluminio. La solución se incubó a temperatura ambiente durante 16 horas en ausencia de luz. Por último se hizo una dilución del ABTS con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia total inicial de  $0,7 \pm 0,02$  a 792 nm. Los resultados se expresaron como micromoles de Trolox equivalentes (TE) por gramo de peso fresco ( $\mu$ mol de TE/g de materia seca).

### **6.6.2.2. Medición de la actividad antioxidante ABTS.**

El ensayo ABTS se realizó con 100 uL de la muestra disuelta apropiadamente con agua o Trolox estándar, se mezcló con 1 mL de solución ABTS•+ y se incubó a 30°C por 30 minutos. Luego se realizó la lectura de la absorbancia a 730 nm después de 60 minutos. La solución acuosa con diferentes concentraciones de Trolox (1 – 30  $\mu$ M) se usó como calibración. Los resultados se expresaron como micromoles de Trolox equivalentes (TE) por gramo de peso fresco ( $\mu$ mol de TE/g de de materia seca).

### **6.6.3 Método ORAC.**

#### **6.6.3.1 Medición de la actividad antioxidante ORAC.**

En el laboratorio la medición de la actividad antioxidante ORAC, se orientó de acuerdo a la siguiente metodología. Inicialmente se preparan soluciones estándar de Trolox a diferentes concentraciones (10, 20, 30, 50, 80, 100  $\mu$ moles Trolox/L) a partir de una solución madre 2 mM (2000  $\mu$ moles Trolox/L); se prepara una solución de trabajo (fluoresceína) tomando 100  $\mu$ L de una solución a 4 $\mu$ M, aforándola a 50 mL con buffer fosfato pH 7,4; se hacen consecutivas diluciones con el objetivo de encontrar valores de actividad ORAC expresada en  $\mu$ mol Trolox/L que se encuentren dentro del rango de la curva de calibración; a continuación se prepara una solución de AAPH pesando 203.4 mg de AAPH (2,2' azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride) y se lleva a aforo a 5 mL con solución buffer fosfato 75 mM pH 7,4.

Una vez preparadas las soluciones, en una microplaca se adiciona 25  $\mu$ L de cada una de las soluciones estándar preparadas, posteriormente se adiciona 150  $\mu$ L de solución de trabajo (solución de fluoresceína) y se incuba a 37°C durante 30 minutos. Pasado el tiempo se adiciona 25  $\mu$ L de solución AAPH e inmediatamente se inicia la cinética leyendo las absorbancias a 485 nm y 520 nm en un espectrofluorimetro SINERGY H1, con intervalos de un minuto. Este mismo

procedimiento se realiza para la muestra y para un blanco de referencia el cual solo contiene fluoresceína y AAPH. Mediante el uso del software GEN 5 se hace la determinación de la NET AUC con la cual se calcula la concentración equivalente en  $\mu\text{moles Trolox}/100\text{ g}$ .

### 6.7 Diseño experimental

Con el fin de determinar el efecto de la frecuencia, la potencia efectiva y el tiempo en el proceso de extracción asistido por ultrasonido de compuestos fenólicos de cascara de tomate de árbol se utilizó un diseño factorial multinivel  $2 \times 2 \times 3$  completamente aleatorizado con 2 niveles para el factor frecuencia, 2 niveles para el factor potencia efectiva de extracción y 3 niveles para el factor tiempo de extracción y una variable respuesta contenido de fenoles totales. Las pruebas se llevaron a cabo por triplicado para un total de 36 corridas. El diseño se analizó por el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.

#### *Tabla 4.*

#### *Factores experimentales del diseño factorial multinivel.*

<b>Factores</b>	<b>Unidades</b>	<b>Bajo</b>	<b>Alto</b>	<b>Niveles</b>
A:Frecuencia	KHz	37	80	2
B: Potencia efectiva de extracción	W	110	220	2
C: Tiempo de extracción	Min	10	30	3

Fuente: (Este estudio)

**Tabla 5.***Variable de respuesta del diseño factorial multinivel.*

<b>Respuesta</b>	<b>Unidades</b>
Contenido de fenoles totales	mg de GAE/g de materia seca

Fuente: (Este estudio).

**Tabla 6.***Matriz del diseño factorial multinivel.*

<b>Repetición</b>	<b>Frecuencia (KHz)</b>	<b>Potencia (W)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
1	80	220	30
1	80	110	30
1	37	220	20
1	37	110	10
1	37	220	30
1	37	110	30
1	80	220	10
1	80	110	10
1	80	220	20
1	37	110	20
1	80	110	20
1	37	220	10
2	80	110	30
2	37	110	30
2	37	110	20
2	37	220	20
2	80	220	20
2	37	110	10
2	37	220	30
2	80	220	30
2	80	110	20
2	80	110	10
2	37	220	10
2	80	220	10
3	37	220	10
3	80	110	30

---

3	37	110	30
3	80	110	20
3	80	220	10
3	80	110	10
3	37	110	10
3	80	220	20
3	80	220	30
3	37	110	20

---

Fuente: (Este estudio)

## 7. RESULTADOS Y ANALISIS

### 7.1 Propiedades fisicoquímicas

#### 7.1.1 Análisis proximal de la cascara de tomate de árbol

La tabla 7 presenta los resultados de la composición proximal de la cascara de tomate de árbol, realizado por el laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño.

**Tabla 7.**

*Análisis proximal, energía y minerales de cascara en polvo de Tomate de Árbol.*

Parámetro	Método	Técnica	Unidad de Medida	Base Parcial m. Seca	Base Seca
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	3.8	
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	96.2	
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	2.94	3.06
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet	Gravimétrica	g/100g	11.52	11.98
Fibra cruda	Digestión ácido-básica. Bolsas Ankom	Gravimétrica	g/100g	43.5	45.22
Proteína	Kjeldahl (N*6.25)	Titulométrica	g/100g	7.41	7.71
Extracto no Nitrogenado	Cálculo matemático	Cálculo matemático	g/100g	30.83	32.04
Energía	Bomba Calorimétrica	Calorimétrica	Kcal/100 g	474	493
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	0.2	0.2
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Colorimétrica	g/100g	0.08	0.08
Magnesio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	0.05	0.05
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	1.49	1.54
Azufre	Oxidación húmeda, Turbidimetría	Turbidimétrica	g/100g	0.11	0.11
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	36.44	37.88
Manganeso	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	13.0	13.51
Zinc	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	8.65	8.99
Cobre	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	13.7	14.24

Fuente: (Este estudio)

La anterior tabla indica que el extracto etéreo hace referencia al contenido de materia grasa que presenta la muestra, mientras que el extracto no nitrogenado representa los carbohidratos digeribles, vitaminas y demás compuestos orgánicos de carácter soluble que se encuentran presentes en la muestra (Novoa *et al.*, 1993).

Es importante resaltar que el componente mayoritario presente dentro de la muestra es la fibra cruda con 45,22 g/100 g en base seca. La fibra cruda se compone por celulosa, hemicelulosa y lignina los cuales son componentes derivados de la pared celular, el alto contenido de fibra valoriza el subproducto obtenido. Repo & Encina (2008) al analizar el alto contenido de fibra de tomate de árbol, sugirieron que podría ser utilizado en alimentos nutraceúticos ricos en fibra. Aspecto muy interesante, porque la fibra alimentaria tiene propiedades positivas para la salud como la reducción del nivel de colesterol en sangre, protección contra diferentes enfermedades, como las cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer.

Teniendo en cuenta la humedad que presenta la muestra se considera ideal para productos en polvo pues ayuda a mantener la alta capacidad de re-hidratación e higroscopicidad; a pesar de que desde el punto de vista operativo, esta condición pueda causar problemas durante el mezclado con otros ingredientes, evitando la adecuada dispersión del mismo para el empaquetado, como consecuencia de la facilidad que tiene el material de absorber agua del medio ambiente y la rapidez para apelmazarse, se asegura entonces que para una adecuada rehidratación y una rápida solubilidad en forma homogénea, es necesaria una hidratación en exceso de agua usando mezcladores a una alta velocidad (Marín *et al.*, 2006).

En orden, los nutrientes en mayor proporción son el potasio (1540 mg/g), calcio (200 mg/100g), azufre (110 mg/100g), fósforo (80 mg/100g), magnesio (50 mg/100g), hierro (3,79 mg/100g), cobre (1,42 mg/100 g), manganeso (1,35 mg/100g) y zinc (0,89 mg/100g). Al igual

que en las cascara de melocotón (Manzoor et al., 2012) el potasio fue el nutriente más abundante. En las cascara de tomate de árbol el potasio y el calcio son los minerales en mayor proporción, resultados que coinciden con proporción de minerales en cascara de cítricos, aunque con valores menores a los encontrados en este estudio, 406 mg/100 g para potasio y 99 mg/100 g de calcio.

En comparación a la cascara de melocotón, los valores en base seca de potasio (1330,1 mg/100 g), manganeso (0,74 mg/100 g) y zinc (0,59 mg/100 g) reportados por (Manzoor *et al.*, 2012), son menores a los encontrados para cascara de tomate de árbol en este estudio, mientras que el calcio (87,5 mg/100 g), hierro (7,01 mg/100 g) y magnesio (100,9 mg/ 100 g) se encuentran en menor cantidad (Xu *et al.*, 2008).

La evaluación proximal llevada a cabo en este estudio, encuentra concordancias en el contenido de algunos minerales de acuerdo a lo reportado por Acosta, y colaboradores (2015) quienes reportan que el mineral con mayor concentración fue K, con un valor promedio de 2,511 g/100 g, seguido de Mg (0.141 g/100 g), P (0.124 g/100 g), Ca (0.06 g/100 g), Fe (13.9 mg/Kg), Zn (9.7 mg/Kg) y Cu (5.7 mg/Kg). Cabe destacar que estos resultados son el promedio de un análisis de diferentes variedades de tomates, incluyendo una variedad silvestre. Estas variaciones se atribuyen a modificaciones en el cultivo, clima, suelo, variedad del fruto, entre otras (Santander et al., 2013). El presente estudio muestra valores superiores para el caso de minerales como el potasio, hierro y cobre.

El potasio es un mineral electrolítico, el cual desempeña un papel importante en el equilibrio iónico y contribuye al mantenimiento de la organización y permeabilidad celular. El calcio es conocido en la nutrición humana para el desarrollo y crecimiento de esqueleto, así como coenzimas en las regulaciones metabólicas de las biomoléculas. El magnesio juega un papel

importante en la estabilidad del sistema nervioso, la contracción muscular, también actúa como un activador de la fosfatasa alcalina y se puede utilizar como una alternativa al calcio en el cuerpo. El manganeso es uno de los elementos esenciales importantes, pero sólo se requiere en cantidades traza para mantener el metabolismo de carbohidratos adecuados, así como un antioxidante en enzimas superóxido dismutasa. El hierro es un oligoelemento importante y es un núcleo de glóbulos rojos, su deficiencia puede causar anemia (Manzoor *et al.*, 2012)

Al tener en cuenta que la cascara en polvo de tomate de árbol, presenta valores significativos de minerales como Zinc y Magnesio, es importante resaltar que ambos son cofactores necesarios en la producción endógena de enzimas de alta relevancia como Superóxido Dismutasa (SOD), Catalasa (CAT), Glutatión Peroxidasa (GPX). Resultados experimentales sustentan la hipótesis de una relación directa entre los niveles de minerales y la actividad de las enzimas antioxidantes. Particularmente la SOD requiere de cobre (Cu) y Zinc (Zn) como cofactores, los cuales, además de su capacidad antioxidante, desempeñan otras importantes funciones a nivel celular, relacionados con la inmunidad, maduración sexual, expresión de información genética, producción de energía, entre otras (Podracka *et al.*, 1999; Czajka, 1998; citados en Bravo *et al.*, 2007).

Cabe destacar además que el contenido de Zinc presente en la muestra es una buena fuente de obtención de este componente, puesto que el valor dietario diario recomendado es de 11 mg para hombres adultos y 8 mg para mujeres adultas, en el caso de niños entre los 4-8 años se requieren 5 mg y para niños de 9-13 años son necesarios 8 mg por día, a su vez mujeres y adolescentes en periodos de embarazo y lactancia requieren entre 11 y 13 mg de Zinc (National Institutes of Health, 2016).

### 7.1.2. Índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento.

La tabla 8 muestra los datos obtenidos de índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH) del pulverizado de cascara de tomate de árbol después de que el material molido se pasó por una malla de 180  $\mu\text{m}$  para normalizar el tamaño de la muestra.

**Tabla 8.**

*Índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH) de cascara en polvo de tomate de árbol.*

Muestra	IAA	ISA (%)	PH
1	4,93	11,37	5,56
2	5,81	12,95	6,67
3	4,73	10,53	5,66
<b>PROMEDIO</b>	5,16	11,62	5,96
<b>DESV. ESTANDAR</b>	0,57	1,23	0,61
<b>COEF. VARIACION</b>	0,11	0,11	0,10

Fuente: (Este estudio)

Rodríguez y colaboradores (2006) reportaron valores de  $9.92 \pm 0.04$  para el IAA y  $19.23 \pm 0.3$  % para ISA en harina de yuca obtenida de parénquima precocido sin reposo, por su parte Rodríguez (2015) reportó que los mayores valores correspondientes a las variables poder de hinchamiento (PH), índice de solubilidad en agua (ISA) e índice de absorción de agua (IAA) son: 10.67 para el PH, 9.85% para el ISA y 9.61 para el IAA, en tres variedades de arroz.

Para fibra dietaria de maracuya proveniente de residuos sólidos resultantes de la industrialización de la fruta, Núñez (2014) reportó valores de  $18.29 \pm 0.04$  para el PH,  $17.51 \pm 0.61$  para el ISA y  $14.91 \pm 0.15$  para el IAA.

Por otra parte Robertson y colaboradores (2000) citado por Núñez (2014) plantea que el poder de hinchamiento para harinas provenientes de frutas debe ser mayor a 20, sin embargo en este estudio no se obtiene un valor similar debido a las condiciones en las que se realiza el procedimiento, una de las razones más probables es que no se trabajó con una variación de temperaturas, puesto que incrementos en la temperatura indican mayores valores del poder de hinchamiento.

Orihuela & Matos (2011) citados por Núñez (2014) consideran que la importancia desde el punto de vista tecnológico para el poder de hinchamiento, radica en que entre más alto sea este valor incrementa la vida útil, proporciona volumen, humedad y apariencia fresca a productos de panificación.

Se observa además que el índice de solubilidad en agua además de incidir sobre la preservación de la humedad del producto (Chimborazo, 2011), influye desde el punto de vista fisiológico generando sensación de saciedad (Abarca, 2010).

De acuerdo a lo manifestado por el Codex Standard 152 (1985) el contenido máximo permitido en la harina de trigo, como referencia por ser una de las harinas más empleada para consumo humano, es de  $15,5\% \text{ m/m}$ , aunque este contenido puede variar de acuerdo con las condiciones climáticas y de almacenamiento de cada país, teniendo en cuenta el estudio llevado a cabo por Vigo (1981) en harina proveniente de banano verde se encontró una humedad final de  $9.02 \pm 0.02$  que por ende es un valor inferior al de la harina de trigo, considerándose entonces un

aspecto positivo en formulaciones en las que se realicen mezclas de estas harinas para el desarrollo de productos perecederos como los panes, ya que la humedad es uno de los aspectos más críticos a controlar para el seguimiento de la calidad y la conservación de alimentos.

## 7.2 Determinación de fenoles totales

A continuación se presentan los resultados por triplicado de la prueba de fenoles totales, determinados por el método Folin-Ciocalteu, una vez aplicadas las diferentes condiciones de extracción.

**Tabla 9. Contenido de fenoles totales para los extractos de cascara de tomate de árbol obtenidos por ultrasonido.**

Factores			Fenoles totales			Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación
Frecuencia (KHz)	Potencia (W)	Tiempo (min)	mgGAE/g muestra seca			mgGAE/g m. seca		
37	110	10	44,46	46,77	52,92	48,05	4,374	9,103
37	110	20	61,38	55,23	57,54	58,05	3,109	5,355
37	110	30	64,46	70,62	63,69	66,26	3,795	5,727
37	220	10	51,38	59,08	56,77	55,74	3,947	7,081
37	220	20	65,23	70,62	75,23	70,36	5,005	7,113
37	220	30	88,31	81,38	79,85	83,18	4,507	5,419
80	110	10	34,46	38,31	42,92	38,56	4,237	10,986
80	110	20	49,08	46,00	51,38	48,82	2,701	5,533
80	110	30	61,38	58,31	66,77	62,15	4,283	6,891
80	220	10	39,85	43,69	46,77	43,44	3,469	7,986
80	220	20	59,85	62,92	66,77	63,18	3,469	5,490
80	220	30	74,46	71,38	69,08	71,64	2,701	3,771

Fuente: (Este estudio)

Los resultados indican que los extractos que presentaron el mayor contenido de fenoles totales fueron en los que el tiempo de extracción fue mayor llegando a alcanzar valores de 83,18 mg de GAE/g de muestra seca y 71,64 mg de GAE/g de muestra seca, los cuales se obtuvieron bajo las

condiciones de extracción de 37 KHz de frecuencia, 220 V de potencia, 30 minutos y 80 KHz de frecuencia, 220 V de potencia y 30 minutos de extracción. En general el mayor contenido de fenoles totales bajo los factores y niveles estudiados se observó cuando la extracción con ultrasonido se realizó a 37KHz de frecuencia, a mayor tiempo de extracción y con potencia de 220 V.

En la tabla 10 se encuentra el análisis de varianza en el que se determina la significancia estadística de los factores evaluados sobre el contenido de fenoles totales como variable respuesta. Los tres factores estudiados: Frecuencia (A), potencia (B) y tiempo (C), al igual que las interacción potencia-tiempo de extracción (BC) bajo los niveles estudiados en el proceso de extracción de fenoles asistido con ultrasonido, causaron un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de fenoles totales ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) con un intervalo de confianza de 95%, mientras que las interacciones frecuencia-potencia de extracción (AB), frecuencia-tiempo de extracción (AC) no tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre la variable respuesta.

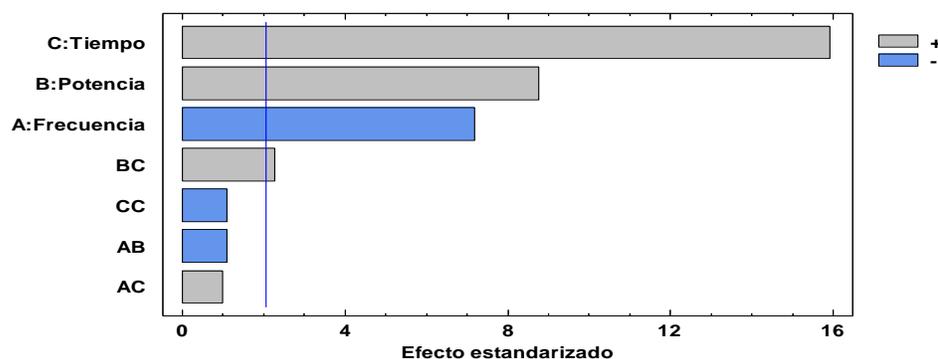
**Tabla 10.**

***Análisis de Varianza para Fenoles totales.***

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:Frecuencia	724,866	1	724,866	48,57	0,0000
B:Potencia	1077,37	1	1077,37	72,19	0,0000
C:Tiempo	3560,21	1	3560,21	238,56	0,0000
AB	16,8373	1	16,8373	1,13	0,2987
AC	14,1834	1	14,1834	0,95	0,3393
BC	71,8642	1	71,8642	4,82	0,0381
CC	17,3952	1	17,3952	1,17	0,2910

Fuente: Este estudio

El gráfico 1 muestra el diagrama de Pareto estandarizado, el cual es una representación gráfica del análisis de varianza donde pueden observarse, en su respectivo orden, los factores más influyentes. Los factores tiempo y potencia de extracción son los factores más influyentes y ejercen un efecto positivo sobre el contenido de fenoles totales, lo cual significa que son directamente proporcionales a la variable respuesta, de tal modo que el contenido de fenoles totales aumenta a medida que el tiempo y la potencia son mayores, mientras que el factor frecuencia ejerce un efecto negativo que significa que es inversamente proporcional a la variable respuesta por lo cual el contenido de fenoles es mayor cuando se utiliza la menor frecuencia de extracción. En orden los factores más influyentes sobre el contenido de fenoles totales son el tiempo (C), la potencia (B), la frecuencia (A), seguido de la interacción tiempo-potencia (BC), mientras que el resto de interacciones no ejercen un efecto estadísticamente significativo.

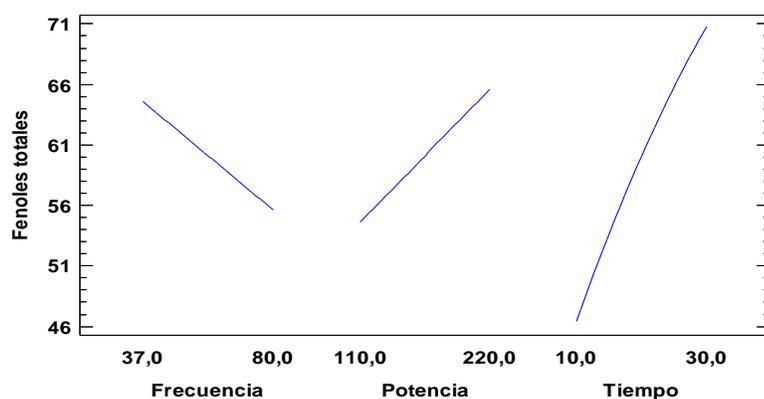


**Gráfico 1. Diagrama de Pareto estandarizado para la cuantificación de fenoles totales con los factores frecuencia, potencia y tiempo de extracción.**

Fuente: (Este estudio)

La grafica 2 indica el efecto de cada uno de los tres factores de estudio sobre la variable respuesta (contenido de fenoles totales). En el gráfico se puede observar que la representación de los factores frecuencia de extracción, potencia y tiempo presentó una pendiente diferente de cero que indican el efecto de éstos en el proceso de extracción asistido por ultrasonido sobre el

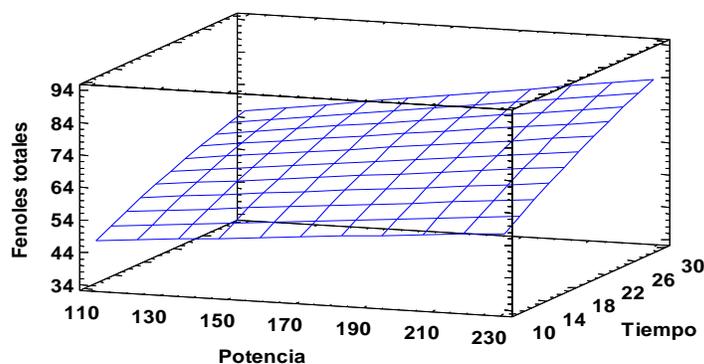
contenido de fenoles totales. El factor tiempo presenta una pendiente más pronunciada que los demás factores, lo que significa que de los tres factores estudiados el tiempo es el factor que más influye sobre el contenido de fenoles totales, además se puede observar que la frecuencia presenta una pendiente negativa por lo cual se establece una relación inversamente proporcional entre éste factor y la variable respuesta lo cual se pudo observar en el diagrama de Pareto.



**Gráfico 2. Efectos principales para fenoles totales.**

Fuente: (Este estudio)

En la gráfica 3. se puede observar la superficie de respuesta estimada con el factor frecuencia estable a un nivel de 37KHz. Se observa entonces el comportamiento de la variable respuesta en función de la potencia y el tiempo de extracción. Bajo los niveles estudiados a mayor tiempo y mayor potencia, el contenido de fenoles aumenta a una frecuencia de 37 KHz.



**Gráfico 3. Superficie de respuesta estimada para fenoles totales a una frecuencia de 37KHz.**

Fuente: (Este estudio).

La extracción asistida por ultrasonidos emplea sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente (Azuola & Vargas, 2007).

El ultrasonido de potencia, son señales de alta intensidad utilizadas con el fin de modificar un proceso o un producto. Con una frecuencia más baja en comparación al ultrasonido de diagnóstico, el ultrasonido de potencia o alta intensidad genera cambios fisicoquímicos en el medio a través de la generación y colapso de burbujas de cavitación, las cuales aparecen, crecen y colapsan dentro del líquido, lo cual ocurre asimétricamente cerca de las interfaces y sobre la superficie sólida (Azuola & Vargas, 2007).

Para determinar el efecto de la potencia efectiva se debe tener en cuenta que el efecto fundamental del ultrasonido en un fluido continuo es imponer una presión acústica (Pa) en adición a la presión hidrostática que ya actúa sobre el medio. La presión acústica es una onda sinusoidal que depende del tiempo ( $t$ ), la frecuencia ( $f$ ) y la amplitud máxima de la presión de la

onda ( $P_{a,max}$ ) (Patist & Bates, 2008). La amplitud máxima de presión de la onda ( $P_{a,max}$ ) es directamente proporcional a la entrada de potencia del transductor. A baja intensidad, la onda de presión induce movimiento y mezcla dentro del fluido, lo que se denomina flujo acústico. A intensidades más altas, la presión local en la fase de expansión del ciclo cae por debajo de la presión de vapor del líquido, causando que pequeñas burbujas empiecen a crecer (creadas a partir de núcleos de gas existentes dentro del fluido). Un aumento adicional genera presiones transitorias negativas dentro del fluido, aumentando el crecimiento de burbujas y produciendo nuevas cavidades por el efecto tensor sobre el fluido. Durante el ciclo de compresión, la burbuja se contrae y su contenido se absorbe de nuevo en el líquido. Sin embargo, puesto que el área superficial de la burbuja es ahora más grande, no todo el vapor es absorbido de nuevo en el líquido y por lo tanto la burbuja crece a lo largo de una serie de ciclos (Patist & Bates, 2008). Por lo tanto la potencia influye en la formación de burbujas dentro del líquido dado que la intensidad se define como la potencia acústica transferida por una onda sonora bajo una unidad de tiempo.

Respecto al papel de la frecuencia en el proceso de extracción asistido por ultrasonido se puede decir que dentro de un intervalo de tamaño crítico, la oscilación de la pared de burbuja coincide con la de la frecuencia aplicada de las ondas de sonido, haciendo que la burbuja haga implosión durante un ciclo de compresión (Patist & Bates, 2008). Lorimer & Mason (1987) muestran que la frecuencia es inversamente proporcional al tamaño de la burbuja, por lo tanto, el ultrasonido de baja frecuencia genera grandes burbujas de cavitación resultando en temperaturas y presiones más altas en la zona de cavitación, a medida que la frecuencia aumenta, la zona de cavitación se vuelve menos violenta, es decir la frecuencia de funcionamiento determina el tamaño de la implosión de cavitación.

La implosión de burbujas de cavitación genera macro-turbulencia, colisiones entre partículas a alta velocidad y perturbación en partículas microporosas de la biomasa que acelera la difusión por remolinos (difusión turbulenta) y la difusión interna. Además, la cavitación cerca de la interfaz líquido-sólido envía una corriente rápida de líquido a través de la cavidad en la superficie. La cavitación en la superficie del producto provoca un choque por micro-chorros que producen desprendimiento superficial, erosión y descomposición de las partículas. Este efecto proporciona la exposición de nuevas superficies aumentando aún más la transferencia de masa (Vilkhu et al., 2008).

Según Vinatoru (2001) la ruptura de las paredes celulares vegetales no es el único mecanismo para el aumento en el rendimiento de la extracción cuando se emplea ultrasonido en material seco, debido a que la extracción con disolventes de muestras secas es un proceso que consta de dos etapas: en primer lugar la inmersión de materiales vegetales en disolvente para facilitar los procesos de hinchamiento e hidratación y como segunda etapa la transferencia de masa de componentes solubles del material al disolvente por difusión y procesos osmóticos. El empleo de ultrasonido facilita la hinchazón y la hidratación y por lo tanto causa una ampliación en los poros de la pared celular, lo que a su vez mejora el proceso de difusión y, por lo tanto, la transferencia de masa aumentando el rendimiento (Vinatoru, 2001).

Se realizó una prueba de falta de ajuste, la cual está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados ó si se debería usar un modelo más complicado. El valor P para la prueba de falta de ajuste dio como resultado 0,4062 concluyendo que el modelo es adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

**Tabla 11.****Optimización de la Respuesta – Maximización de Fenoles Totales.**

<b>Factor</b>	<b>Bajo</b>	<b>Alto</b>	<b>Optimo</b>
Frecuencia	37,0	80,0	37,0
Potencia	110,0	220,0	220,0
Tiempo	10,0	30,0	30,0

Fuente: Este trabajo.

De acuerdo a la Tabla 11. al maximizar la variable respuesta bajo el modelo anteriormente mencionado dentro de los factores y niveles estudiados, el contenido de fenoles totales en el epicarpio de tomate de árbol es de 82,40 mg GAE/g de muestra seca, mientras que experimentalmente se obtuvo un resultado de 81,38 mg GAE/g de muestra seca, con un error del 1,24%.

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos a partir del diseño experimental en el cual se pueden observar los valores de los coeficientes estimados para cada variable.

**Tabla 12. Coeficientes de regresión para Fenoles totales.**

<b>Coefficiente</b>	<b>Estimado</b>
Constante	34,6262
A:Frecuencia	-0,184793
B:Potencia	0,0703734
C:Tiempo	1,0795
AB	-0,000578342
AC	0,00357558
BC	0,00314621
CC	-0,0147458

Fuente: (Este estudio)

A continuación se presenta la ecuación de regresión que se ajusta a los datos experimentales, la cual se construye con valores de la tabla anterior:

**Ecuación 4. Ecuación de regresión múltiple ajustada a los datos experimentales (modelo completo).**

$$\begin{aligned} \text{Fenoles totales} = & 34,6262 - 0,184793 * \text{Frecuencia} + 0,0703734 * \text{Potencia} \\ & + 1,0795 * \text{Tiempo} - 0,000578342 * \text{Frecuencia} * \text{Potencia} + 0,00357558 * \\ & \text{Frecuencia} * \text{Tiempo} + 0,00314621 * \text{Potencia} * \text{Tiempo} - 0,0147558 * \text{Tiempo}^2 \end{aligned}$$

Eliminando las interacciones que no tienen efectos significativos sobre el contenido de fenoles totales (AB), (AC), (CC) obtenemos la ecuación del modelo reducido, así:

**Ecuación 5. Ecuación de regresión múltiple ajustada a los datos experimentales (modelo reducido).**

$$\begin{aligned} \text{Fenoles totales} = & 34,6262 - 0,184793 * \text{Frecuencia} + 0,0703734 * \text{Potencia} \\ & + 1,0795 * \text{Tiempo} + 0,00314621 * \text{Potencia} * \text{Tiempo} \end{aligned}$$

Para realizar una validación de los modelos teóricos, es decir, establecer una correlación entre los datos experimentales y los datos teóricos encontrados, en la tabla 12 se muestra los datos experimentales y los datos obtenidos por los modelos teóricos, tanto el modelo completo como el modelo reducido, empleando las ecuaciones antes descritas.

**Tabla 13.**

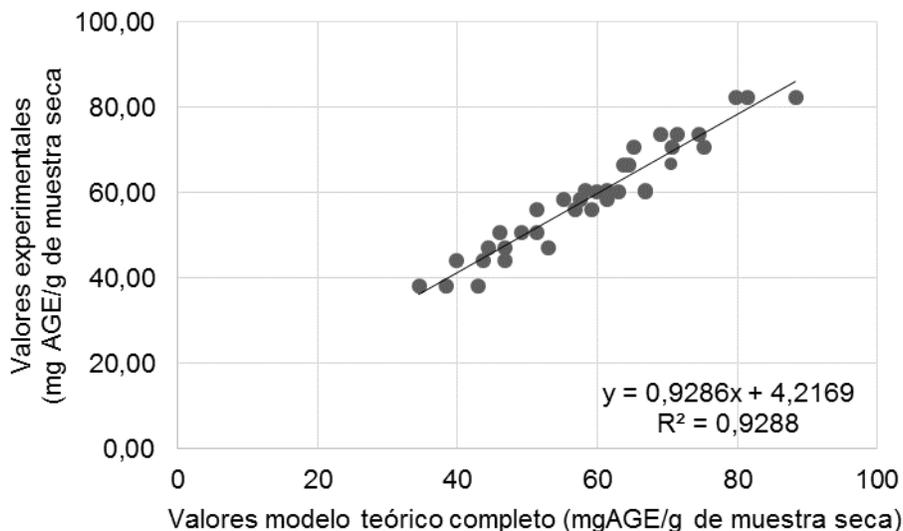
**Resultados estimados para fenoles totales teóricos versus experimentales.**

Factores			Fenoles totales		
Frecuencia	Potencia	Tiempo	Experimentales	Modelo completo	Modelo reducido
KHz	V	min	mg GAE/g muestra seca	mg GAE/g muestra seca	mg GAE/g muestra seca
37	110	10	44,46	47,28	49,79
37	110	20	61,38	58,43	64,04
37	110	30	64,46	66,63	78,30

37	220	10	51,38	56,13	60,99
37	220	20	65,23	70,74	78,70
37	220	30	88,31	82,40	96,42
80	110	10	34,46	38,14	41,84
80	110	20	49,08	50,82	56,10
80	110	30	61,38	60,56	70,35
80	220	10	39,85	44,25	53,04
80	220	20	59,85	60,40	70,76
80	220	30	74,46	73,60	88,47
37	110	10	46,77	47,28	49,79
37	110	20	55,23	58,43	64,04
37	110	30	70,62	66,63	78,30
37	220	10	59,08	56,13	60,99
37	220	20	70,62	70,74	78,70
37	220	30	81,38	82,40	96,42
80	110	10	38,31	38,14	41,84
80	110	20	46,00	50,82	56,10
80	110	30	58,31	60,56	70,35
80	220	10	43,69	44,25	53,04
80	220	20	62,92	60,40	70,76
80	220	30	71,38	73,60	88,47
37	110	10	52,92	47,28	49,79
37	110	20	57,54	58,43	64,04
37	110	30	63,69	66,63	78,30
37	220	10	56,77	56,13	60,99
37	220	20	75,23	70,74	78,70
37	220	30	79,85	82,40	96,42
80	110	10	42,92	38,14	41,84
80	110	20	51,38	50,82	56,10
80	110	30	66,77	60,56	70,35
80	220	10	46,77	44,25	53,04
80	220	20	66,77	60,40	70,76
80	220	30	69,08	73,60	88,47

Fuente: (Este estudio)

A continuación en el Gráfico 4. se puede observar la correlación realizada para los datos teóricos versus los experimentales según el modelo completo.



**Gráfico 4. Validación del modelo experimental versus teórico completo.**

Fuente: (Este estudio)

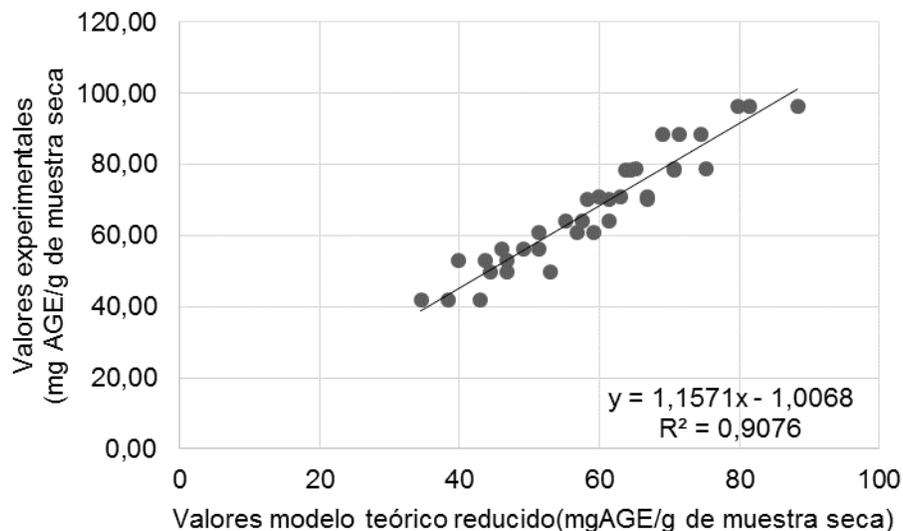
La ecuación encontrada para la correlación de datos teóricos versus los experimentales es la siguiente:

**Ecuación 6. Correlación valores experimentales versus valores teóricos**

$$y = 0,92864x + 4,2169$$

La correlación entre los valores de fenoles totales encontrados experimentalmente versus los valores de fenoles totales encontrados teóricamente presentaron un  $r^2$  de 0,9288. Significa que el modelo de maximización teórico encontrado predice en un 92,88% los datos encontrados experimentalmente, es decir, el modelo teórico tiene buena capacidad de predicción y por lo tanto es aceptable, dado que supera el 80%.

El Gráfico 5. muestra la correlación realizada para los datos teóricos versus los experimentales según el modelo reducido.



**Gráfico 5. Validación del modelo experimental versus teórico reducido.**

Fuente: (Este estudio)

La ecuación encontrada para la correlación de datos teóricos del modelo reducido versus los experimentales es la siguiente:

**Ecuación 7. Correlación valores experimentales modelo reducido versus valores teóricos**

$$y = 1,1571x + 1,0068$$

La correlación entre los valores de fenoles totales encontrados de forma experimental versus los valores de fenoles totales encontrados teóricamente presentaron un  $r^2$  de 0,9076. Significa que el modelo de maximización teórico encontrado predice en un 90,76% los datos encontrados experimentalmente, es decir, el modelo teórico tiene buena capacidad de predicción y por lo tanto es aceptable, dado que supera el 80%.

Para efectos comparativos sobre la incidencia de la extracción asistida por ultrasonido, se realizó una extracción de tipo convencional empleando una plancha de agitación IKA C-MAG HS 7, teniendo en cuenta los siguientes factores:

a. T=ambiente, b. tiempo= 10, 20 y 30 min, c. muestra: pulverizado de epicarpio de tomate de árbol [5%  $m/v$ ] y suspensión etanólica al 60%.

Los resultados de la extracción convencional se reportan a continuación:

**Tabla 14.**

**Contenido de Fenoles totales de Extractos Etanólicos obtenidos por metodología convencional – extracción con solventes.**

Tiempo de extracción	Repeticiones			Promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación
	1	2	3			
Min	mg GAE/g	mg GAE/g	mg GAE/g	mg GAE/g		
	muestra seca	muestra seca	muestra seca	muestra seca		
10	1,29	1,1	1,38	1,26	0,14	0,11
20	1,54	1,76	1,69	1,66	0,11	0,07
30	1,62	1,75	1,89	1,75	0,14	0,08

Fuente: Este estudio.

El contenido de fenoles totales presentes en el extracto de cascara de tomate de árbol obtenidos por extracción convencional en este estudio, se encuentra dentro del rango de fenoles totales reportados por Contreras y colaboradores (2011) que determinaron el contenido de fenoles totales tanto en semillas como en cascara de 24 frutos exóticos colombianos, cuyos valores oscilan entre 0,20 y 48,51 mg GAE/g para semillas y de 0,62 a 17,12 mg GAE/g en cascara. A su vez los valores reportados en esta investigación son mayores a los reportados por Repo de Carrasco y colaboradores (2008) que realizaron una extracción convencional con metanol y encontraron que el contenido de fenoles totales de tomate de árbol fue de  $1,3 \pm 0,8$  mg GAE/g de

piel + pulpa, la diferencia se podría deber a la matriz utilizada en la extracción y el solvente utilizado.

La metodología convencional empleada en esta investigación, bajo los tiempos estudiados, encuentra que la mejor extracción se presenta al emplear 30 minutos, reportando un valor promedio de 1,75 mg GAE/g muestra seca. En comparación a la extracción obtenida por ultrasonido este valor es 47 veces menor. Cabe destacar que la eficiencia en la extracción por solventes incrementa cuando se emplean tiempos de operación más prolongados.

Dichos resultados se podrían explicar ya que el empleo de la extracción asistida por ultrasonido posee una eficiencia 10 veces mayor que la extracción por solventes y 35 veces mayor que la extracción por soxhlet (Azuola & Vargas, 2007).

Así mismo la extracción de isoflavonas de soya fue mayor cuando se empleó ultrasonido, entre un 6,4% y un 25%, con respecto al método tradicional utilizando metanol, etanol o acetonitrilo a temperatura ambiente con agitación (Rostagno et al 2013). Palma (2002) encontró que el empleo de ultrasonido en la extracción de isoflavonas de frijoles de soya aumentó la eficiencia entre un 30% y un 200% en comparación al método tradicional por solventes con mezclado y agitación utilizando metanol a diferentes concentraciones.

Las diferencias presentes entre los diferentes métodos de extracción y muestras empleadas para comparar el contenido de fenoles totales obtenidos en este estudio a comparación de otros estudios se muestra a continuación en la siguiente tabla.

**Tabla 15.****Comparativo con diferentes matrices en el contenido de fenoles totales**

AUTOR (ES)	AÑO	MUESTRA DE ESTUDIO	PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES
Torres	2012	Pulpa de tomate de árbol	Fenoles totales	1,39	mg GAE/g muestra
		Residuos de mora	Fenoles totales	126,9	mg/l GAE/g muestra seca
Sánchez y colaboradores	2010	Residuos de maracuya	Fenoles totales	8,646	mg GAE/g muestra seca
		Residuos de tomate de árbol	Fenoles totales	14,51	mg GAE/g muestra seca
Repo de Carrasco & Enzina	2008	Pulpa de tomate de árbol	Fenoles totales	1,3	mg GAE/g muestra
Ghafoor y colaboradores	2009	Semillas de Uva	Fenoles totales	5,44	mg GAE/100 mL
		Semillas de 24 frutas exóticas Colombianas	Fenoles totales	0,2 - 48,51	mg GAE/g muestra
Contreras y colaboradores	2011	Cáscara de 24 frutas exóticas Colombianas	Fenoles totales	0,62 - 17,12	mg GAE/g muestra
		Pulpa de 24 frutas exóticas Colombianas	Fenoles totales	0,16 - 10,18	mg GAE/g muestra
Esparza y colaboradores	2016	Lima liofilizada	Fenoles totales	26,47	mg GAE/g muestra seca
Rojas y colaboradores	2014	Mora Castilla Liofilizada	Fenoles totales	30	mg GAE/g muestra seca
Espinal y colaboradores	2010	Guayaba	Fenoles totales	3,22	mg GAE/100 g pulpa

Fuente: (Este estudio).

Las condiciones bajo las cuales se desarrolló cada estudio serán explicadas a continuación.

En comparación a residuos de otras frutas, el contenido de fenoles totales de las cáscaras de tomate de árbol obtenidas por ultrasonido es mayor al contenido de fenoles totales de cáscaras de tomate de árbol y maracuyá reportados por Sánchez y colaboradores (2010), quienes realizaron una maceración y extracción etanólica en material seco obteniendo valores de 14,51 mg GAE/g y 8,646 mg GAE/g de muestra seca para cáscaras de tomate de árbol y maracuyá, respectivamente. De igual forma, el contenido de fenoles totales es mayor a los valores reportados para mora por

Rojas y colaboradores (2014), quienes, bajo condiciones óptimas de extracción asistida por ultrasonido utilizando acetona en solución acuosa al 31%, un tiempo de extracción de 100 minutos en un baño ultrasónico a 37 kHz de frecuencia y 35 w de potencia, reportaron que contenido de compuestos fenólicos es de 30 mg GAE/g peso seco. Además es mayor el contenido de fenoles a los reportados para cascara de maracuyá por Wong y colaboradores (2014) quienes determinaron que bajo condiciones óptimas la cascara de maracuyá tiene un contenido fenólico total de 15,84  $\mu$ g GAE/g.

Esparza y colaboradores (2016) determinaron el efecto de los tratamientos a altas temperaturas sobre la composición fenólica y la actividad antioxidante de los residuos de lima (*Citrus x aurantifolia*) incluyendo el albedo, flavedo, las membranas capilares y los residuos de pulpa después de la extracción del zumo. En residuos de lima liofilizados el contenido de fenoles totales extraíbles (extracción asistida por ultrasonido con metanol al 80%, T= ambiente, 60 min) fue de 21,61 mg GAE/g; dicho valor aumentó cuando se optó por secar la muestra a una temperatura de 120°C llegando a obtener 26,47 mg GAE/g muestra seca de fenoles totales extraíbles. Sin embargo dichos valores son inferiores a los encontrados en este estudio.

Sánchez y colaboradores (2010) determinaron que las semillas de mora son los mayores aportantes de fitofenoles con 126,9 mg GAE/g vegetal seco. Kuskoski y colaboradores (2005) encontraron los siguientes valores de fenoles totales para pulpas de acerola 580,1 mg GAE/g y mango 544,9 mg GAE/g. Como se evidencia el valor obtenido en este estudio para el extracto seco de cascara de tomate de árbol obtenido por ultrasonido es menor en comparación a los reportados anteriormente, de igual forma, es menor a los valores reportados Estrada y colaboradores (2012), quienes concluyeron que el mayor contenido de fenoles totales extraídos

mediante ultrasonido de cascara de mango se obtiene en un rango superior a 60% en solución de etanol y un tiempo de 20 min obteniendo valores de 800 mg GAE/g residuo.

Comparando la cantidad de compuestos fenólicos de la cascara de tomate de árbol en relación a la parte comestible de otras frutas, el contenido de fenoles es mayor a los valores reportados en la literatura consultada. Espinal y colaboradores (2010) estudiaron cuatro variedades de guayaba en Colombia determinando que el mayor contenido de fenoles se encontró en la guayaba regional blanca con un estimado de 3,01mg GAE/g de pulpa, por su parte Rojas y colaboradores (2014) determinaron el contenido de compuestos fenólicos en mora liofilizada en 30 mg GAE/g peso seco, mientras que Moreno y colaboradores (2014) hicieron la determinación de fenoles totales obtenidos por extracción etanólica de diferentes pulpas liofilizadas de fruta, indicando que el extracto que mayor cantidad posee en cuanto a fenoles totales es el concerniente a la Curuba, con un valor de 6,38 mg GAE/g muestra en base húmeda. Como puede observarse el contenido de fenoles de estas frutas es menor al valor encontrado en esta investigación, 83,18 mg GAE/g muestra seca, con la aclaración de que en el extracto de curuba se parte de una matriz con alto contenido de humedad.

Respecto a la concentración del etanol en la extracción de compuestos fenólicos Spigno y colaboradores (2007) establecieron que el rendimiento de fenoles del extracto aumentó cuando el contenido de agua se incrementó, aumentando el porcentaje de agua en el etanol de un 10% al 30%, mientras que no hay cambios significativos para un contenido de agua entre 30 y 60%. Yilmaz y Toledo (2006) reportados por Spigno, et al (2007) descubrieron que el contenido de fenoles de extractos etanólicos de semilla de uva aumentó cuando la proporción de agua en la mezcla subió de un 0% a 30%, se mantuvo constante durante 30-40-50% y disminuyó para mayor porcentaje.

### 7.3 Determinación de la actividad antioxidante

De acuerdo a la revisión de literatura que se llevó a cabo en esta investigación se determinó que los análisis de actividad antioxidante ABTS, DPPH y ORAC, se realizarían sobre la extracción que mayor contenido de fenoles totales arrojará; ya que la actividad antioxidante de productos hortofrutícolas puede relacionarse con el contenido de fenoles totales.

Vasco y colaboradores (2008) manifestaron que aquellas especies con una capacidad antioxidante moderada evidencian un aporte bajo a intermedio de fenoles totales, y aquellas que exhiben un elevado potencial antioxidante muestran un aporte intermedio a alto de compuestos fenólicos, demostrando así que el contenido fenólico en frutas y vegetales puede contribuir significativamente a su capacidad antioxidante. Este estudio se realizó sobre frutas ecuatorianas que mostraron una elevada capacidad para atrapar el radical DPPH·, revelando a su vez un moderado a elevado contenido de fenoles totales.

Por su parte Prior y colaboradores (1998) encontraron una alta correlación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante, evaluada por ORAC, de diferentes cultivos de especies de *Vaccinium* (Arándanos).

Además, pueden existir correlaciones bajas o moderadas entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales, debido a la presencia de otros compuestos no fenólicos, como carotenoides y ácido ascórbico, con potencial antioxidante (Zapata et al., 2014; Sánchez et al., 2010).

En este contexto la tabla 16. muestra los resultados de actividad antioxidante DPPH, ABTS y ORAC de tres muestras obtenidas bajo las mejores condiciones de extracción dentro de los niveles estudiados. Los análisis de actividad antioxidante fueron realizados en el laboratorio de

Calidad de la empresa AOX LAB S.A.S, ubicada en la ciudad de Medellín - Colombia. El informe final generado por la empresa en cuestión se presenta al final de este documento como anexo.

**Tabla 16.**

***Actividad antioxidante de extracto etanólico de epicarpio de tomate de árbol reportados por AOXLAB.***

<b>Repetición</b>	<b>DPPH</b>	<b>ABTS</b>	<b>ORAC</b>
	mg Trolox/100 g de extracto	mg Trolox/100 g de extracto	μmol Trolox/100 g de extracto
1	101,77	503,31	2093
2	107,43	521,71	2081
3	103,74	498,44	2134

Fuente: (Este estudio).

Dado que los datos suministrados por el laboratorio AOXLAB se reportaron en unidades sobre 100 g de extracto, se procedió a hacer la conversión que permitiese reportar y comparar dicho valor, en unidades μmol Trolox/g de muestra seca. Para ello se determinó la densidad del extracto (87,34 mg/mL) y se tuvo en cuenta la concentración (1:20 m/v) utilizada en la extracción. Una vez hechos cálculos correspondientes los resultados se muestran en la tabla 17.

**Tabla 17.****Actividad antioxidante de extracto etanólico de epicarpio de tomate de árbol.**

<b>Repetición</b>	<b>DPPH</b>	<b>ABTS</b>	<b>ORAC</b>
	$\mu\text{mol Trolox/g de}$ muestra seca	$\mu\text{mol Trolox/g de}$ muestra seca	$\mu\text{mol Trolox/g de}$ muestra seca
1	71,03	351,27	365,61
2	74,98	364,11	363,51
3	72,40	347,87	372,77
Promedio	72,80	354,41	367,29
Desviación estándar	2,01	8,57	4,85
Coefficiente de variación	0,03	0,02	0,01

Las diferencias presentes entre los resultados obtenidos por los métodos DPPH y ABTS se atribuyen a los inconvenientes presentados por el método DPPH, los cuales limitan y dificultan su aplicación. En primer lugar, sólo puede disolverse en medios orgánicos (especialmente en medios alcohólicos), no en medios acuosos, lo cual limita de manera importante la interpretación del papel de los antioxidantes hidrófilos. La molécula de DPPH tiene pocas similitudes con los radicales peroxilo, los cuales son altamente reactivos y transitorios. Además, muchos antioxidantes que pueden reaccionar rápidamente con radicales peroxilo in vivo, pueden reaccionar lentamente o incluso pueden ser inertes a DPPH.

Entre tanto la cinética de reacción que se presenta entre el DPPH y los antioxidantes no es lineal a la concentración del DPPH; además, la interpretación de los resultados es complicada si los compuestos de ensayo tienen espectros que superponen DPPH a 515 nm (Karadag *et al.*, 2009).

Por otra parte la reacción ABTS, puede llevarse a cabo tanto en medio acuoso como en medio orgánico. Esta no se ve afectada por la fuerza iónica, razón que permite medir la capacidad antioxidante sin implicaciones de la naturaleza hidrófila ó lipófila de los compuestos. El método TEAC que se basa en la oxidación de ABTS en presencia de  $H_2O_2$  y metroglobina solo mide antioxidantes hidrófilos. La preparación del radical ABTS mediante el filtrado de la solución de ABTS a través de polvo de dióxido de manganeso permite que el ensayo mida antioxidantes lipófilos como carotenoides y tocoferoles. Al cambiar el disolvente de agua a etanol, el método TEAC también permite la medición de ambos tipos de antioxidantes, además de que el ensayo TEAC permite estudiar muestras en un amplio rango de pH (Karadag *et al*, 2009).

Según Floegel y colaboradores (2011) en relación con el ensayo de DPPH, el ensayo ABTS se correlaciona más fuertemente con ORAC, lo cual sugiere que el ensayo de ABTS refleja mejor el contenido de antioxidantes en una gran variedad de alimentos en comparación al DPPH, sin embargo considera que para el estudio de la actividad antioxidante se debe tener en cuenta que los análisis de ABTS y DPPH son modelos *in vitro* y no evalúan todas las actividades antioxidantes en los alimentos. Por último, la capacidad antioxidante de los alimentos puede variar dependiendo de la estación de cultivo, el origen geográfico y las prácticas agrícolas (Floegel *et al.*, 2011).

La correlación entre las capacidades antioxidantes detectadas por los ensayos de ABTS y DPPH es fuerte en frutas y bebidas, pero es menor en hortalizas. La mayoría de las hortalizas analizadas por Floegel y colaboradores (2011) mostraron una capacidad antioxidante mucho más baja, medida por el ensayo de DPPH en relación con el ensayo ABTS. El ensayo ABTS se basa en la generación de  $ABTS^{\bullet+}$  azul/verde, que es aplicable tanto a sistemas antioxidantes hidrófilos como lipófilos; mientras que el ensayo de DPPH utiliza un radical disuelto en medio orgánico y

es, por lo tanto, aplicable a sistemas hidrófobos. La diferencia entre las capacidades antioxidantes determinadas por los dos ensayos fue mayor en alimentos altamente pigmentados como cereza, espinaca, ciruelas y col roja (Floegel *et al.*, 2011).

En cuanto al ensayo ORAC, su diseño original limita la medición de la capacidad antioxidante hidrofílica que rompe la cadena sólo contra los radicales peroxilo. Sin embargo, muchos antioxidantes son lipofílicos y son particularmente importantes contra la oxidación de lípidos en todos los sistemas, así como otros radicales que son muy activos fisiológicamente (Karadag *et al.*, 2009).

Respecto a la actividad antioxidante DPPH, los valores encontrados en este estudio, bajo los niveles estudiados para cascara de tomate de árbol (72,80  $\mu\text{mol TE/g}$ ), son mayores a los reportados para pulpas de tomate de árbol, tanto de semillas rojas como purpuras cuyos valores oscilan entre 12,2 y 48,7  $\mu\text{mol TE/g}$  (Acosta *et al.*, 2015) y valores reportados por Repo y colaboradores (2008) 3,41  $\mu\text{mol TE/g}$  tejido. Como se evidencia de acuerdo a lo manifestado anteriormente, el contenido de fenoles totales es mayor en la cascara en comparación a la pulpa, y por ende la actividad antioxidante por DPPH es mayor en esta investigación en comparación a las que se realizaron en pulpas.

Para ello en primera instancia se presenta un comparativo con los valores encontrados para la actividad antioxidante empleando las metodologías DPPH, ABTS y ORAC en diferentes estudios, describiendo posteriormente las condiciones específicas de cada estudio.

**Tabla 18.**

*Valores comparativos de diferentes muestras para la determinación de la actividad antioxidante por las metodologías ABTS, DPPH y ORAC*

AUTOR (ES)	AÑO	MUESTRA DE ESTUDIO	PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES
Kuskoski y colaboradores	2005	Pulpa Acerola	DPPH	68,2	μmol TE/g muestra
		Pulpa de Mango		13,7	μmol TE/g muestra
		Pulpa Acerola	ABTS	67,6	μmol TE/g muestra
		Pulpa de Mango		13,2	μmol TE/g muestra
Repo de Carrasco & Enzina	2008	Pulpa de tomate de árbol	DPPH	3,41	μmol TE/ g tejido
			ABTS	3,34	μmol TE/ g tejido
Moreno y colaboradores	2014	Aguacate hass (cascara)	DPPH	189,8 +- 10,8	μmol TE/g base humeda
		Semilla Aguacate hass		164,6 +- 5,1	μmol TE/g base humeda
Rojas y colaboradores	2014	Mora Castilla Liofilizada	ORAC	273	mM TE/g muestra seca
Acosta y colaboradores	2015	Pulpa de tomate de árbol	DPPH	12,2-48,7	μmol TE/g muestra
Kabir y colaboradores	2015	Semillas de Uva	DPPH	10,5	μg TE/ml
		Ciruella Madura		15,2	μg TE/ml
		Cascara de Trigo		37,6	μg TE/ml
Espin y colaboradores	2016	Cuatro Cultivares Tomate Árbol	ABTS	89	μmol TE/g pulpa seca
			ORAC	325	μmol TE/g pulpa seca
Esparza y colaboradores	2016	Lima liofilizada	DPPH	122,28- 294,92	μmol TE/g muestra seca
			ABTS	676,99	μmol TE/g muestra seca
			ORAC	960,68	μmolTE/g muestra

Fuente: (Este estudio).

En comparación a otros frutos la actividad antioxidante es mayor a la reportada para el caso de pulpas de acerola y mango, las cuales presentan valores de 68,2 y 13,7 μmol TE/g de muestra respectivamente (Kuskoski et al., 2005). Sin embargo la actividad antioxidante DPPH es menor a

la reportada para lima liofilizada cuyos valores oscilaron entre 122,28 a 294,92  $\mu\text{mol TE/g}$  muestra seca (Esparza et al., 2016) y aguacate Hass que reportan valores de  $189,8 \pm 10,8 \mu\text{mol TE/g}$  base húmeda para cáscara y  $164,6 \pm 5,1 \mu\text{mol TE/g}$  base húmeda en semilla, en el caso de los residuos, mientras que en pulpa se reporta  $165,10 \pm 4,36 \mu\text{mol TE/g}$  base húmeda (Moreno et al, 2014).

Al evaluar la actividad antioxidante en base a la metodología ABTS se encuentra que la cascara en polvo de tomate de árbol empleada en esta investigación posee un valor de 354,41  $\mu\text{mol Trolox/g}$  de muestra seca, que en comparación a los resultados reportados por Esparza y colaboradores (2016) en Lima Liofilizada es 1.9 veces menor, pues esta tiene una actividad de 676,99  $\mu\text{mol TE/g}$  muestra seca. A su vez el valor reportado por esta investigación es 3.9 veces superior al reportado por Espin y colaboradores (2016) en cuatro cultivares de tomate de árbol (89  $\mu\text{mol TE/g}$  pulpa seca), 5.24 y 26.8 veces superior a los reportados por Kuskoski y colaboradores (2005), 67.6  $\mu\text{mol TE/g}$  muestra y 13.2  $\mu\text{mol TE/g}$  muestra, en pulpas de acerola y mango respectivamente y 106 veces mayor al reportado en pulpa de tomate de árbol 3.34  $\mu\text{mol TE/g}$  tejido (Repo et al., 2008). Con ello se corrobora que el contenido de fenoles totales influye en la actividad antioxidante y que esta a su vez se encuentra influenciada por la parte del fruto o vegetal que sea tomado como matriz de análisis.

En cuanto a la capacidad de absorción de oxígeno Esparza y colaboradores (2016) reportan que muestras de lima liofilizada poseen un valor ORAC de 960,68  $\mu\text{mol TE/g}$  muestra, que es 2.6 veces superior al reportado en esta investigación 367.29  $\mu\text{mol Trolox/g}$  de muestra seca en cascara en polvo de tomate de árbol; sin embargo este resultado es mayor a los reportados por Espin y colaboradores 325  $\mu\text{mol Trolox/g}$  pulpa seca en cuatro cultivares de tomate de árbol, y el

reportado por Rojas y Colaboradores (2014) en mora de castilla liofilizada 273  $\mu\text{mol Trolox/g}$  de muestra seca.

Cabe destacar de acuerdo a investigaciones de varios autores, una ingesta contemplada entre 3.000 a 5.000 ORAC/día, promueve benéficamente el equilibrio oxidativo en el plasma sanguíneo y los tejidos corporales (Rojano et al., 2012; Prior et al., 2003), razón por la cual se recomienda la ingesta permanente de productos naturales con alto contenido de antioxidantes, promoviendo así un concepto saludable nutracéutico.

## 8. CONCLUSIONES

La cascara de tomate de árbol se caracteriza por el alto contenido de fibra (45,22 g/100g) importante en la industria para la obtención de alimentos nutraceuticos, además del alto contenido de extracto no nitrogenado 32,04 g/100g.

Los nutrientes en mayor proporción de la cascara de tomate de árbol son el potasio (1540 mg/100g), calcio (200 mg/100g), azufre (110 mg/100g), fosforo (80 mg/100g), magnesio (50mg/100g), hierro (3,79 mg/100g), cobre (1,42 mg/100 g), manganeso (1,35 mg/100g) y zinc (0,89 mg/100g)

El índice de absorción de agua (IAA) de cascara en polvo de tomate de árbol fue de 5,16, el índice de solubilidad en agua (ISA) 10,53 y el poder de hinchamiento (PH) 5,66.

El mayor contenido de fenoles totales bajo los factores y niveles estudiados se observó cuando la extracción con ultrasonido se realizó a 37KHz de frecuencia, a mayor tiempo de extracción 30 min y con potencia de 220V con un valor de 83,18 mg GAE/g de muestra seca.

Los factores frecuencia, potencia y tiempo de extracción, al igual que la interacción potencia-tiempo de extracción, bajo los niveles estudiados en el proceso de extracción de fenoles asistido con ultrasonido, causan un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de fenoles totales (p-valor < 0,05) con un intervalo de confianza de 95%.

La actividad antioxidante del extracto obtenido bajo las mejores condiciones de extracción fue de 72,80, 354,41 y 367,29  $\mu\text{mol Trolox/g}$  de muestra seca obtenidas bajo las metodologías DPPH, ABTS y ORAC, respectivamente.

Al comparar los resultados de esta investigación con los reportados en la literatura, la cascara de tomate de árbol puede ser fuente de compuestos bioactivos ya que tiene mayor contenido de fenoles totales y de actividad antioxidante que la pulpa y los residuos de otras frutas.

## 9. RECOMENDACIONES

Los resultados para la extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos, sugieren que el tiempo de extracción en los niveles estudiados no llega a ser el óptimo, por ende se sugiere estudiar el efecto del tiempo con niveles superiores a los 30 minutos.

Realizar un estudio del efecto del tipo y la concentración de solvente utilizados para la extracción asistida con ultrasonido sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.

Complementar la investigación con la realización de estudios de factibilidad para establecer si es recomendable realizar extracción de compuestos antioxidantes de cascara de tomate de árbol.

Evaluar otro método de secado de la cascara de tomate de árbol, que involucre menor temperatura y tiempo ya que se sabe que en esta operación se pueden perder compuestos antioxidantes.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Acosta, P. G., Raigón, M. D., Riofrío, T., García, M. D., Plazas, M., Burneo, J. I., Prohens, J. (2015). Diversity for chemical composition in a collection of different varietal types of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an Andean exotic fruit. *Food chemistry*, 169, 327-335.
- AGROWASTE. (s.f.). *Extracción de compuestos de interés*.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2012). review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Azuola, R., & Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en Marcha*, 20(4), 20-40.
- Bast, A., Haenen, G., Van den Verg, R., & Van den Verg, H. (1998). Antioxidant effects of carotenoids. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 68, 399-403.
- Bobbio, F., Bobbio, P., & Rodríguez, D. (1983). Anthocyanins of the Brazilian fruit *Cyphomandra betacea*. *Food Chemistry*, 12, 189-195.
- Bravo, Al., Araujo, S., Vargas, M. E., Mesa, J., Souki, A., Bermúdez, V., & Cano, C. (2007). Actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa y niveles de cobre y zinc en

- pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26(1), 37-41.
- Brawek, B., Löffler, M., Wagner, K., Huppertz, H.-J., Weyerbrock, A., Jackisch, R., & Feuerstein, T. (2010). Reactive oxygen species (ROS) in the human neocortex: Role of aging and cognition. *Brain Research Bulletin*, 81, 484-490.
- Caballero, C. V., & Palacio, L. M. (2010). Enfermedades crónicas no transmisibles. Es tiempo de pensar en ellas. *Revista Científica Salud Uninorte*, 26(2), 7-9.
- Calvo, I. (2009). *Cultivo de Tomate de Árbol*. San José de Costa Rica: Instituto Nacional de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria.
- Camara de Comercio de Bogota. (2015). *Manual Tomate de Arbol*.
- Cárdenas, Z. E. (2009). *Identificación de híbridos en lulo (solanum quitoense Lam.) y tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) mediante el uso de marcadores COSII*.
- Carneiro, P., Duarte, M., & Videira, A. (2012). Disruption of alternative NAD(P)H dehydrogenases leads to decreased mitochondrial ROS in *Neurospora crassa*. *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 402-409.
- Carocho, M., & Ferreira, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Castro, H., Benelli, P., Ferreira, S., & Parada, F. (2013). Supercritical fluid extracts from tamarillo (*Solanum betaceum* Sendtn) epicarp and its application as protectors against lipid oxidation of cooked beef meat. *The Journal of Supercritical Fluids*, 76, 17-23.

- Cayuela, M. L., Millner, P. D., Meyer, S. L., & Roig, A. (2008). Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes. *Science of the Total Environment*, 399, 11-18.
- Chimborazo, M. F. (2011). *Efecto de escaldado y molienda en las capacidades de absorción y retención de agua en la fibra dietética de Naranja (Citrus sinensis)*. Tesis de Pregrado. Universidad Técnica de Ambato, Ambato - Ecuador.
- Choksi, R. B., Boylston, W. H., Rabek, J. P., Widger, W. R., & Papaconstantinou, J. (2004). Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron transport complexes. *Biochim Biophys Acta*, 1688(2), 95-101.
- Clark, C., & Richardson, A. (2002). Biomass and mineral nutrient partitioning in a developing tamarillo (*Cyphomandra betacea*) crop. *Scientia Horticulturae*, 94, 41-51.
- CODEX Stan 152. (1985). Ley federal sobre metrología y normalización para la harina de trigo. México.
- Contreras, J., Calderón, L., Guerra, E., & García, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food research international*, 44(7), 2047-2053.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2005). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *evista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Da Silva, J., Herrmann, S. M., Heuser, V., Peres, W., Possa, N., & González, J. (2002). Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food Chemistry*, 40, 941-947.

Dabrowska, C. C., & Mir, M. S. (2009). *Vitaminas y antioxidantes* (Vol. 2). Madrid: Sanidad y Ediciones.

DECRETO 4741. (2005). Bogotá D.C., Colombia, 30 de Diciembre de 2005.

Departamento Nacional de Planeación. (2004). *Cadenas Productivas. Estructura, comercio internacional y protección.*

Di Giogia, D., Sciubba, L., Setti, L., Luziatelli, F., Ruzzi, M., GZanichelli, D., & Fava, F. (2007). Production of biovanillin from wheat bran. *Enzyme and Microbial Technology*, 41, 498-505.

Dirección Nacional de Planeación. (2008). *Política Nacional Fitosanitaria y de Inocuidad para las Cadenas de Frutas y Otros Vegetales.* Bogota D.C.: Documento CONPES 3514.

Esparza, F. J., Miranda, R., & Guzman, S. H. (2016). Effect of air-drying temperature on extractable and non-extractable phenolics and antioxidant capacity of lime wastes. *Industrial Crops and Products*, 84, 1-6.

Espin, S., Gonzalez, S., Taco, V., Poveda, C., Ayuda, B., Gonzalez, A. M., & Santos, C. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). *Food chemistry*, 194, 1073-1080.

Espinal, M., Olaya, J. R., & Patricia Parada, F. S. (2010). *La guayaba, fuente de fenoles con actividad antioxidante.*

Estrada, R., Ruiz, F., & Martínez, H. A. (2012). Extracción de compuestos fenólicos totales de residuo de mango común (*mangifera indica* L.) empleando ultrasonido. *Acta Agronómica*, 1(6), 95-96.

- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., & Apanasets, O. (2011). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1822, 1363-1373.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- García, L., García, V., Rojo, D., & Sánchez, E. (2001). Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, 20(3), 231-235.
- Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., & Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4988-4994.
- Gil del Valle, L. (2011). Oxidative stress in aging: theoretico outcomes and clinical evidences in humans. *Biomedicine and aging pathology*, 1, 1-7.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261-272.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 52, 481-504.
- Hurtado, A. M. (2014). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales de frutas para la obtención de aceites con potencialidad en la industria cosmética, utilizando la tecnología de extracción con fluidos supercríticos*. Pasto: consejo departamental de ciencia, tecnología e innovación – CODECTI.

- Kabir, F., Tow, W. W., Hamauzu, Y., Katayama, S., Tanaka, S., & Nakamura, S. (2015). Antioxidant and cytoprotective activities of extracts prepared from fruit and vegetable wastes and by-products. *Food chemistry*, *167*, 358-362.
- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, *2*(1), 41-60.
- Kong, J., Chia, L., Goh, N., Chia, T., & Brouillard, R. (2003). Analysis biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, *64*, 923-933.
- Kou, M., Yen, J., Hong, J., Wang, C., Lin, C., & Wu, M. (2009). Cythomandra betacea Sendt. phenolics protect LDL from oxidation and PC12 cells from oxidative stress, LWT. *Food Science and Technology*, *42*, 548-463.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Food Science and Technology*, *24*(4), 691-693.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, *25*(4), 726-732.
- León de Fernandez, O. (2004). Estrés oxidativo teoría. EN: Rosas A.R (ed). Nuevas fuentes de antioxidantes naturales. *CYTEC*.
- Li, Z.-y., Yang, Y., Ming, M., & Liu, B. (2011). Mitochondrial ROS generation for regulation of autophagic pathways in cancer. *Biochemical and Biophysical Research*, *414*, 5-8.
- Lorimer, J. P., & Mason, T. J. (1987). Sonochemistry Part 1. The Physical Aspects. *Chemical Society Reviews*, *16*, 239–274.

- Martínez, V. A. (2015). *Efecto del pelado sobre la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del tomate de árbol amarillo y morado*. Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito.
- Manzoor, M., Anwar, F., Mahmood, Z., Rashid, U., & Ashraf, M. (2012). Variation in minerals, phenolics and antioxidant activity of peel and pulp of different varieties of peach (*Prunus persica* L.) fruit from Pakistan. *Molecules*, 17(6), 6491-6506.
- Marín, E., Lemus, M., & Flores, M. La rehidratación de alimentos deshidratados. (2006). *Rev Chil Nutr*; 33 (3): 527-38.
- Mark, R., & McCalland, B. (1999). Can antioxidants vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology & Medicine*, 26(7/8), 1034-1053.
- Martínez, R. R., & Díaz, F. A. (2010). Las enfermedades crónicas no transmisibles en Colombia. *Boletín del observatorio en salud*, 3(4), 1-9.
- Martínez, S., González, J., & Culebras, J. M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(n06).
- Medina, L. A. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos.
- Miller, N. J., & Rice, C. A. (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60, 331-337.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). (2015). *SEGURIDAD ALIMENTARIA Y CADENAS PRODUCTIVAS EN CENTRALES MAYORISTAS*. Bogotá, D.C.: MINAGRICULTURA.

- Moreno, E., Ortiz, B. L., & Restrepo, L. P. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 43(3), 41-48.
- Mosquera, O. M., Niño, J., Correa, Y. M., & Buitrago, D. C. (2005). Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales. *Scientia et Technica*, 1(27), 231-234.
- National Institutes of Health. (2016). *Datos sobre el Zinc*. Maryland, Estados Unidos: Office of Dietary Supplements. Recuperado el 5 de Mayo de 2017, de <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Zinc-DatosEnEspanol.pdf>
- Núñez, A. (2011). Terapia Antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: Retos y oportunidades. *Red cubana de Salud Pública*, 37, 644-660.
- Núñez, J. C. (2014). *Extracción, Cuantificación, Caracterización Físicoquímica y Funcional de Fibra Dietaria obtenida a partir de residuos de Maracuyá (Passiflora edulis f. flavicarpa Deg)*. (Tesis de Pregrado). Universidad San Francisco de Quito - Quito.
- Ojha, H., Mishra, K., & Chandhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130, 1036-1043.
- Olvera, M. A., Martínez, C. A., & Real, E. (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*. Mexico: FAO.
- Ordoñez, R., Cardozo, M., Zampini, I., & Isla, M. (2010). Evaluation of antioxidant activity and genotoxicity of alcoholic and aqueous beverages and pomace derived from ripe fruits of *Cyphomandra betacea* Sendt. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 331-337.

- Palma, M. & Barroso, C.G. 2001. "Ultrasoundassisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products". *Analytica Chimica Acta*. N° 458: 119-130.
- Parawira, W., Read, J. S., Mattiasson, B., & Björnsson, L. (2008). Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*, 32, 44-50.
- Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative food science & emerging technologies*, 9(2), 147-154.
- Pepe, H., Serda, S., Revan, S., Aekr, P., & Kutoglu, F. (2009). Comparison of oxidative stress and antioxidant capacity before and after running exercises in both sexes. *Gender Medicine*, 6, 587-595.
- Peredo, H. A., Palou, E., & López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 24-32.
- Pérez, S. J., Chavarría, N., Alfaro, R. H., & Rodríguez, A. I. (2016). Ultrasonido: tecnología emergente en la extracción de biomoléculas de interés para la industria de alimentos y farmacéutica. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 2(3).
- Pinto, L. E., & Tiaguaro, C. A. (2012). *Caracterización patológica y molecular de la antracnosis del tomate de árbol (solanum betacea) y chocho (lupinus mutabilis)*. Escuela Politécnica del ejército.
- Porras, A. P., & López, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-134.

- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 4290-4302.
- Prior R.L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., et al. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC<sub>FL</sub>) of plasma and other biological and food samples. *J Agr Food Chem.*; 51, 3273-3279.
- Prior, R.L., Cap, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., et al. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content maturity and variety of *Vaccinium* species. *J Agr Food Chem*, 46, 2686-2693.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Ramírez, C., Wood, S. G., Duthie, S. J., Collins, A. R., & Duthie, G. G. (1999). Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Repo, R., & Encina, C. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. *Rev Soc Quím Perú*, 2, 108-124.
- Riggi, E., & Avola, G. (2008). Fresh tomato packinghouses waste as high added-value biosource. *Resources, Conservation and Recycling*(53), 96-106.

- Rivas, B., Aliakbarian, B., Torre, P., Perego, P., Domínguez, J. M., Zilli, Y., & Converti, A. (2009). "Vanillin bioproduction from alkaline hydrolyzate of corn cob by *Escherichia coli* JM109/pBB1. *Enzyme and Microbial Technology*, 44, 154-158.
- Rodríguez, D., Bobbio, P., & Bobbio, F. (1983). Carotenoid composition and vitamin A value of the Brazilian fruits *Cyphomandra betacea*. *Food Chemistry*, 12, 61-65.
- Rodríguez, Z., Robaina, M., Jáuregui, U., Blanco, A., & Rodríguez, J. E. (2014). Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 45, 139-147.
- Rodríguez, E., Fernández, A., Alonso, L., & Ospina, B. (2006). Reología de suspensiones preparadas con harina precocida de yuca. *Ingeniería & Desarrollo* (19), 17-30.
- Rodríguez, E., Lascano, A., & Sandoval, G. (2012). Influencia de la sustitución parcial de la harina de trigo por harina de quínoa y papa en las propiedades termomecánicas y de panificación de masas. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 199-207.
- Rodríguez, D. (2015). *Potencial Agroalimentario del Almidón de arroz de tres variedades cultivadas en el departamento del Tolima. (Tesis de Maestría)*. Universidad del Tolima, Ibagué - Tolima.
- Rojano, B., Gavéria, C., Gil, M., Saéz, J., Schinella, G., & Tournier, H. (2008). Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae*, 15(1), 173-181.
- Rojano, B., Zapata, K., & Cortés F. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey (curuba). *Rev Cubana Plantas Med.*; 17, 408-419.

- Rojas, J., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2014). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Vitae*, 21(3), 218-227.
- Rostagno, M., Palma, M. & Barroso, C. 2003. "Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones". *Journal of Chromatography A*. 1012: 119-128.
- Sánchez, W. F., Murillo, E., & Méndez, J. J. (2010). Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consumo en el Tolima. *Scientia et Technica*, 3(46), 138-143.
- Sánchez, C. (2002). Compuestos polifenólicos efectos fisiológicos. Actividad antioxidante . *Alimentaria*, 29-40.
- Santander, M. G., Mejía, D. F., & Osorio, O. (2013). Estandarización del protocolo para evaluar la actividad enzimática de peroxidasa en tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *Temas Agrarios*, 18(2), 36-49. Obtenido de <http://revistas.unicordoba.edu.co/ojs/index.php/temasagrarios/article/view/604>
- Schmeda, G., Feresin, G., Tapia, A., Hilgert, N., & Theoduloz, C. (2005). Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian yungas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1357-1364.
- Sierens, J., Hartley, J. A., Campbell, M. J., & Leatherm, A. (2002). In vitro isoflavone supplementation reduces hydrogen peroxide induced DNA damage in sperm. *Teratog Carcinog Mutagen*, 22, 227-234.

- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering*, 81(1), 200-208.
- Stajčić, S., Četković, G., Čanadanović, J., Djilas, S., Mandić, A., & Četojević, D. (2015). Tomato waste: Carotenoids content, antioxidant and cell growth activities. *Food Chemistry*, 172, 225-232.
- Sun, D., Wang, W., Waterhouse, G. I., & Wadhwa, S. S. (2013). Utilisation potential of Feijoa fruit wastes as ingredients for functional foods. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3441-3455.
- Szeto, Y. T., Collins, A. R., & Benzie, L. (2002). Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 500, 31-38.
- Tawaha, K., Alali, F., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104, 1372-1378.
- Torres, A. (2012). Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa madura de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) (Cav.) Sendtn. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN*, 62(4), 381-388.
- Tovar del Río, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera.

- Vági, E., Simándi, B., Vászárhelyiné, K. P., Daood, H., Kéry, Á., Doleschall, F., & Nagy, B. (2007). Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products. *The Journal of supercritical fluids*, 40(2), 218-226.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem*, 111, 816-823.
- Velázquez, Ó., Rosas, M., Lara, A., Pastelín, G., Sánchez, C., Attie, F., & Tapia, R. (2003). Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México: Resultados finales de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Archivos de cardiología de México*, 73(1), 62-77.
- Vigo, M. (1981). Estudios sobre alimentos tradicionales de humedad intermedia elaborados en la Argentina. *Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 21, 91-99.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry*, 8(3), 303-313.
- Wilms, L., Hollman, P., Boots, A., & Leinjangs, J. (2005). Protection by quercetin and quercetin-rich juice against induction of oxidative DNA damage and formation of BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 582, 155-162.

- Wong, Y. S., Sia, C. M., Eng, H., Ang, Y. K., Chang, S. K., & Yim, H. S. (2014). Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, *13*(3), 257-265.
- Xu, G. H., Chen, J. C., Liu, D. H., Zhang, Y. H., Jiang, P., & Ye, X. Q. (2008). Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of citrus peel extract by hot water. *Journal of food science*, *73*(1), 11-18.
- Yilmaz, S., Ozan, S., Benzer, F., & Canatan, H. (2003). Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell Biochem Function*, *21*, 325-340.
- Zhu, K.-X., Lian, C.-X., Guo, X.-N., Peng, W., & Zhou, H.-M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, *126*, 122-126.
- Zapata, Sandra, Piedrahita, Ana María, & Rojano, Benjamín. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, *16*(1), 25-36.
- Zuleta, A., Esteve, M., & Frigola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, *114*, 310-316.

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Protocolo determinación de fenoles totales Folin-Ciocalteu del laboratorio de calidad y conservación de alimentos

### Curva de calibración

Se prepara una solución madre de ácido gálico a una concentración de 1000ppm (1mg/mL), diluyendo 250mg de ácido gálico en agua destilada en un balón de 250ml. Se Prepara una solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20% P/V, pesando 5g y diluyendo con agua destilada y aforando en un balón de 25mL. Dejar reposar la solución de carbonato por 5 minutos. Preparar las diluciones a concentraciones de 25, 50, 100, 150, 250 y 500 ppm a partir de la solución madre de ácido gálico así:

Solución madre de ácido gálico.	Volumen de ácido gálico.	Volumen de balón aforado.	Concentración de ácido gálico.
Ppm	mL	mL	Ppm
1000	0,25	10	25
1000	0,5	10	50
1000	1	10	100
1000	1,5	10	150
1000	2,5	10	250
1000	5	10	500

### Preparación de la reacción y medición de absorbancia

Adicionar en orden 0,1mL de la solución a analizar (en este caso las diluciones de ácido gálico), 0,5mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 1,5mL de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20% P/V y

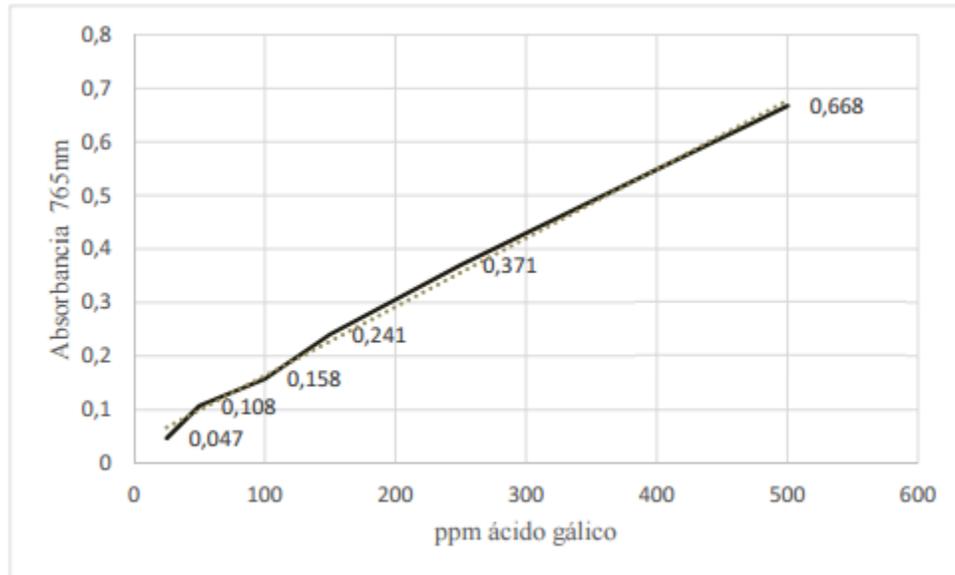
aforar con agua destilada en el balón de 10mL. Agitar cada una de las soluciones. Dejar reposar las soluciones por 2 horas en la oscuridad. A una longitud de onda a 765nm hacer la lectura de absorbancia.

### Datos obtenidos

<b>AG(ppm)</b>	<b>Abs 1</b>	<b>Abs 2</b>	<b>Abs 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>DE</b>	<b>CV</b>
25	0,048	0,049	0,045	0,047	0,002	4,397
50	0,111	0,108	0,105	0,108	0,003	2,777
100	0,158	0,156	0,160	0,158	0,002	1,265
150	0,243	0,239	0,240	0,241	0,002	0,864
250	0,373	0,369	0,371	0,371	0,002	0,539
500	0,667	0,669	0,669	0,667	0,001	0,172

AG: Acido gálico; Abs: Absorción; DE: Desviación estándar; CV: Coeficiente de varianza.

**Curva de calibración de ácido gálico para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.**



**Ecuación:**

$$y = 0,0013 x + 0,0352 \quad R^2 = 0,9961$$

Donde  $y$  es la absorbancia de la muestra y  $x$  es la concentración en ppm de ácido gálico.

Despejando  $x$ :

$$x = \frac{y - 0,0352}{0,0013}$$

**Anexo 2. Resultados Análisis proximal, energía y minerales de cascara de tomate de árbol**

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>				Código: LBE-PRS-FR-76	
	<b>REPORTE DE RESULTADOS</b>				Página: 1 de 1	
					Versión: 2	
					Vigente a partir de: 2014-01-15	
<b>LABORATORIO</b>			<b>BROMATOLOGIA - ABONOS ORGÁNICOS</b>			
<b>DATOS USUARIO</b>		<b>DATOS MUESTRA</b>		<b>REPORTE No. LB-R-</b>		<b>004-17</b>
Solicitante: Edison Ferney Riascos, Daniel Felipe Mera. Tesis Ing. Agroindustrial		Muestra: Harina de cascara de tomate de árbol		Código muestra		015
Dirección: Calle 17 No. 10 - 54. B/ Fátima, Pasto		Procedencia: Restaurante. Pasto				
cc / nit: 1.085.302.387 1.085.303.646		Responsable del Muestreo <sup>a</sup>		Edison Ferney Riascos, Daniel Felipe Mera		
Teléfono: 317 760 4493		Fecha de Muestreo <sup>a</sup>		AA 16	MM 12	DD 15
e-mail e22merad@hotmail.com		Fecha Recepción Muestra en Laboratorio		AA 17	MM 02	DD 15
		Fecha de Emisión del Reporte		AA 17	MM 03	DD 14
<b>FECHA DE EJECUCIÓN DEL ENSAYO</b>		2017-02-15 a 2017-03-13				
<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>		Proximal, Energía, Minerales				
<b>PARÁMETRO</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>TÉCNICA</b>	<b>UNIDAD DE MEDIDA</b>	<b>Base Parcialm. Seca</b>	<b>Base Seca</b>	
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	3,80		
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	96,20		
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	2,94	3,06	
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet	Gravimétrica	g/100g	11,52	11,98	
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Bolsas Ankom	Gravimétrica	g/100g	43,50	45,22	
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Titulométrica	g/100g	7,41	7,71	
Extracto No Nitrogenado	Cálculo matemático	Cálculo matemático	g/100g	30,83	32,04	
Energía	Bomba calorimétrica	Calorimétrica	Kcal/100g	474	493	
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	0,20	0,20	
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Colorimétrica	g/100g	0,08	0,08	
Magnesio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	0,05	0,05	
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	g/100g	1,49	1,54	
Azufre	Oxidación húmeda, Turbidimetría	Turbidimétrica	g/100g	0,11	0,11	
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	36,44	37,88	
Manganeso	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	13,00	13,51	
Zinc	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	8,65	8,99	
Cobre	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotometría A.A.	mg/Kg	13,70	14,24	
<b>OBSERVACIONES</b>						
<b>Nota a</b>		Información suministrada por el usuario				
<b>Expresión de resultados</b>		Con base a muestra seca				
<b>RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA</b>						
UNA VEZ ENTREGADO ESTE INFORME DE RESULTADOS, EL LABORATORIO DEJA DE TENER CONTROL SOBRE SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL.						

Original firmado

Gloria Sandra Espinosa Narváez

Téc. Laboratorio Bromatología - Abonos Orgánicos

Elaboración del Reporte

Aprobación del Reporte

Revisó:

GSEN

2017-03-14

FIN REPORTE DE RESULTADOS

### Anexo 3. Resultados análisis de actividad antioxidante de extracto obtenido por ultrasonido de cascara de tomate de árbol.

	<b>SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD</b>		Código	SGC-F-025
			Versión	05
	<b>DIRECCIÓN TÉCNICA</b>		Fecha	14/09/2016
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>		Página	1 de 3

**INFORME DE RESULTADOS ICR N° AX\_0268-17**

<b>CLIENTE</b> FELIPE MERA DAVID	<b>TELÉFONO</b> 3177604493	<b>NIT/CC</b> 1085303646
<b>CONTACTO</b> FELIPE MERA DAVID	<b>DIRECCIÓN</b> CLL 17 #10-54 FATIMA	<b>E-MAIL</b> e22merad@hotmail.com
<b>FECHA INGRESO</b> 2017-04-05	<b>FECHA ANÁLISIS</b> 2017-04-22	<b>FECHA INFORME</b> 2017-04-22

**MATRIZ Y/O PRODUCTO:** FRUTAS Y/O DERIVADOS (COMPOTAS, PURÉS Y/U OTROS)      **ÁREA DE ANÁLISIS** ANTIOXIDANTES

ID MUESTRA:0268-17		DESCRIPCIÓN:EXTRACTO ETANÓLICO DE CÁSCARA DE TOMATE DE ÁRBOL				
MENSURADOS	RESULTADOS	UNIDADES	INCERTIDUMBRE	MÉTODO	NORMATIVA	CUMPLIMIENTO
VALOR TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) DPPH ó ABTS (Valor TEAC ( mg Trolox/ 100 g Extracto))	101,77 107,43 103,74	Valor TEAC ( mg Trolox/ 100 g Extracto)		Espectrofotométrico	N.A	NO APLICA
VALOR ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (Valor ORAC (umoles trolox/100g extracto))	2093 2081 2134	Valor ORAC (umoles trolox/100g extracto)		Espectrofotométrico	N.A	NO APLICA
VALOR TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ABTS (Valor TEAC ( mg Trolox/ 100 g Extracto))	503,31 521,31 498,44	Valor TEAC ( mg Trolox/ 100 g Extracto)		Espectrofotométrico	N.A	NO APLICA

**CONCEPTO:** La muestra cumple con los parámetros establecidos

FIN DEL INFORME

**SGC-F-025 INFORME DE RESULTADOS AOXLAB S.A.S**

[WWW.AOXLAB.COM](http://WWW.AOXLAB.COM)  
Calle 32 F N° 74 B-122 Laureles - Medellín  
Tel: +57 (4) 411 79 07 Cel: 312 874 32 91